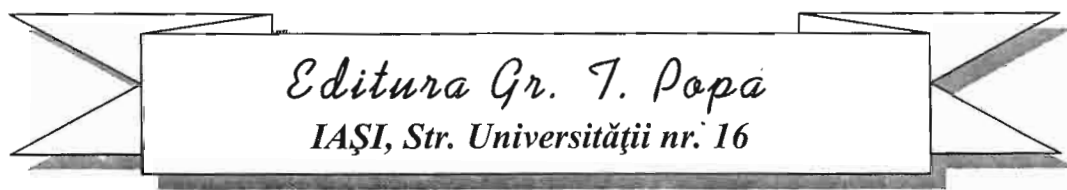


DUMITRU T. BUIUC

MICROBIOLOGIE MEDICALĂ

**Ghid pentru studiul
și practica medicinei**

Ediția a VI-a



Referenți științifici:

Prof. dr. Marian NEGUȚ

Prof. dr. Vasile LUCA

Prof. dr. Sofia TIMOȘCA

Ediția I-a, 1974, I.M.F. Iași

Ediția a II-a, 1977, I.M.F. Iași

Ediția a III-a, 1982, I.M.F. Iași

Ediția a IV-a, 1987, I.M.F. Iași

Ediția a V-a, 1992, Editura Didactică și Pedagogică București

Ediția a VI-a, 2003, Editura „Gr.T.Popa” Iași

Tehnoredactare: Sorin Oreste Popescu, Ana Vornicu.

Grafica: Marius C. Atanasiu

Coperta: Marius C. Atanasiu

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

BUIUC, DUMITRU

MICROBIOLOGIE MEDICALĂ: ghid pentru studiul și practica medicinei /

Dumitru T. Buiuc. – Iași : Editura Gr. T. Popa, 2003

ISBN 973-7906-16-0

579(075.8)

Toate drepturile asupra acestei lucrări aparțin autorilor și Editurii Gr. T. Popa Iași.
Nici o parte din acest volum nu poate fi copiată sau transmisă prin nici un mijloc, electronic sau mecanic, inclusiv fotocopiare, fără permisiunea scrisă din partea autorilor sau editurii.

LA 125 ANI AI FACULTĂȚII DE MEDICINĂ DIN IAȘI

OMAGIU

PROFESORULUI ALEXANDRU SLĂTINEANU ȘI COLABORATORILOR
CU CĂRE A CTITORIT PRIMA ȘCOALĂ IEȘEANĂ DE BACTERIOLOGIE
DISTRUSĂ DE VITREGIA VREMURILOR ȘI RĂUTATEA OAMENILOR.

Domnule Ministru,

- 1) Nu am laborator.
- 2) Nu am mijloace pentru organizarea unui laborator. De doi ani — mi s'a dat numai o singură dată de D-nu Arion Ministru. Instr. Publice de pe atunci suma de lei 10.000. Cu această sumă se poate organiza un laborator volant de campanie — dar nici de cum un laborator de învățământ.

"1) Nu am laborator.

2) Nu am mijloace pentru organizarea unui laborator. De doi ani — mi s'a dat numai o singură dată de D-nu Arion Ministr. Instr. Publice de pe atunci suma de lei 10000. Cu această sumă se poate organiza un laborator volant de campanie — dar nici de cum un laborator de învățământ."

Alexandru Slătineanu

Iași 22 Februarie 1914, Adresa nr. 13

către Ministerul Cultelor și Instrucțiunii Publice, București

Înalt Prea Sfințe.

Doamnelor și Domnilor.

Vă rog să îngăduiți unui Moldovean de dată recentă — pentru că din naștere sunt Oltean — să iau cuvântul în această adunare care are de scop propășirea Iașului.

"Înalt Prea Sfințe,

Doamnelor și Domnilor,

Vă rog să îngăduiți unui Moldovean de dată recentă — pentru că din naștere sunt Oltean — să iau cuvântul în această adunare care are de scop propășirea Iașului.

☞ Sunt aproape 25 de ani de când sunt profesor la Iași - și fapt curios am rămas ☞
Ieșean. - Într'un sfert de veac am putut să-mi dau seama de lipsurile Iașului și de
puțină îngrijire pe care Iașul a avut de la centru - precum și de defectele ieșenilor.
- De la început pot spune că nu voi cruța nici nepăsarea centrului, nici
«lasă-mă să te las» al ieșenilor".

Alexandru Slătineanu, 1936

"...venind în calitate de Profesor de Bacteriologie la Iași, vă mărturisesc că mă
așteptam să găsesc un laborator foarte modest dacă nu chiar în mizerie, ca și
târgul în care se află, ca și alte laboratoare ale facultății noastre ieșene.
Spre plăcuta mea surprindere și cu orgoliul de specialist și de bun român, am
constatat că laboratorul a cărui conducere am luat-o e mai bogat ca cel al cărui
titular am rămas încă în institutul Pasteur din Paris. Aparate moderne și extrem
de costisitoare, microsoapele cele mai bune din lume; instalație cu peste 25 de
mese cu față de lavă (și care azi costă în medie peste 20000-lei bucata)...O estimatie
preliminară m-a făcut să prețuiesc între 10 și 20 milioane lei averea
laboratorului de Bacteriologie."

Ștefan S. Nicolau

Iași 3 Noiembrie 1939, Adresa nr. 88,

Domnului Judecător de Instrucție al Cab. III Trib. Iași

"Tovarășe Președinte,

Subsemnatul dr. Gheorghiu Ioan, fost profesor agregat Facultatea de Medicină Iași,...la 18 mai 1950
am fost arestat, cu mandatul nr. 34225/1951, pentru faptul de uneltire, condamnat la 15 ani muncă
silnică...Am luat parte la toate campaniile 1913, 1916, 1919, 1921...concentrat și mobilizat din 1940-
1945...am instruit 33 promoții de studenți..., cred că nu mai este cazul să dau concurs ca medic,
pentru un serviciu, fiind medic primar din 1927 și ca profesor universitar să trec concursul înaintea
unei comisii formată din medici care altădată mi-au fost studenți la examene...Mi s-a adus vina că aș
fi fost legionar sau simpatizant, însă autoritățile de anchetă, ca și cercetările din închisoare, de la
Suceava, Aiud și Gherla, nu au găsit nici un indiciu în această acuzație...eu am fost amnistiat în
4 iunie 1964...

La luptă pentru pace!"

Ioan Gheorghiu, primul colaborator de la Iași și șef de lucrări al Profesorului Slătineanu,
din Memoriul adresat Președintelui Republicii Populare Române

☞ În luna Noiembrie 1944 m-am aflat la Iași, întors cu fond M.S. în calitate ☞
singurul medic; cu toate presiunile ce s-au făcut asupra mea și a Rodică de a pleca din
Iași, refuzând dorit de acel potentat de pe acea vreme, eu aveam mare popularitate între
muncitori al căror medic am fost multă vreme - și vreau să vă prezint legăturile reu-
tate pe lângă M.S. că au venit la Iași și mi-a declarat că sînt transferat ca medic în
Spitalul în centrala Ministerului; în realitate Ministerul nu s-a interesat să plece pe

Ion Alexa, apropiat colaborator al Profesorului Slătineanu, arestat după ce a condus cu
succes campania antimalarică, 1947, din județul Tulcea

"...am fost demis din toate funcțiile de la Iași în 1947....aceiași Minister mă demitea lunar din funcția
de medic șef de laborator iar autoritățile locale mă mențineau și apelau la experiența mea în cazuri de
epidemii..."

Constantin Bart, condamnat politic, apropiat colaborator al Profesorului Slătineanu, din
Curriculum Vitae

Planşe

CAPITOLUL 1

PLANȘA 1.1

1.1 IMAGINI DIN ISTORIA MICROBIOLOGIEI

1 ANTONIUS VAN LEEUWENHOEK (1632-1723) mare microscopist olandez, a descoperit microorganismele. Născut la Delft, a fost inițial contabil la un magazin de textile din Amsterdam. În 1654 a revenit în orașul natal. Către vârsta de 40 de ani a învățat să șlefuiască lentile și a construit microscopul al căror secret de construcție nu l-a divulgat. A comunicat însă observațiile sale microscopice, printre care primele protozoare (1674) și bacterii (1675), Societății Regale din Londra. A fost cel mai faimos și fecund corespondent al acestei societăți științifice, care l-a ales membru în 1680.

2 Facsimil din *Arcana naturae ope microscopiorum detecta*, Delft 1695, o sinteză a scrisorilor publicate între 1674-1676 în revista *Philosophical Transactions*. Pagină cu animalculii observați de Leeuwenhoek. Pot fi recunoscuți în desen: **A** un bacil, **B** traseul unui bacil mobil (linia punctată dintre **C** și **D**), **E** coci, **F** bacili polimorfi, **G** un spiril. În 1923 C. Dobell recunoștea în aceste desene *Leptothrix buccalis* (**F**) și o specie de *Selenomonas* (**G**).

3 LOUIS PASTEUR (1822-1895) genial chimist francez. Profesor de fizică la liceul din Dijon, de chimie la Universitatea din Strassbourg (1852), Decan al Facultății de științe din Lille (1854), Director de studii la Școala Normală din Paris. A fondat stereochimia prin studiul izomerilor acidului tartric. Este părintele microbiologiei experimentale prin demonstrarea corelației a variate fermentații cu microorganisme vii definite, studiul cauzelor unor boli infecțioase ale animalelor și omului. A dat soluții pentru prevenirea pierderilor determinate de perturbarea fermentațiilor vinului și berii. A descoperit vaccinurile atenuate contra holerei găinilor, antraxului, rujetului porcilor, rabiei. Economii aduse prin aplicarea acestor descoperiri în industria băuturilor fermentate și zootehnie depășeau cele 5 miliarde de franci aur, datorită de război a Franței către Prusia în 1870. Inestimabilă rămâne însă contribuția pe care a adus-o la dezvoltarea medicinei și chirurgiei. La moartea sa, în 1895, Franța a organizat funeralii naționale cu onoruri militare și a fost înmormântat într-o somptuoasă criptă de la Institutul pe care îl fondase savantul la Paris.

4 ROBERT KOCH (1843-1910) chirurg în războiul franco-prusian din 1870. În 1872 era medic al plasei Wollstein din Prusia. A devenit al doilea părinte al microbiologiei prin studiile și descoperirile sale epocale asupra cauzei antraxului (1876), etiologiei infecțiilor posttraumatice (1878), prepararea mediilor solide pentru izolarea bacteriilor în culturi pure (1881), descoperirea bacilului tuberculozei (1882), a vibrionului holerice (1883), a tuberculinei (1890), studiile asupra pestei bovine și a bolii somnului în Africa (1896). Premiul Nobel pentru medicină (1905).



1

unquā sanguinem emittat. Nec tar
sunt puri, quin, ubi eos per speculi
tuerer, viderim crescentem inter de

fig. A — D

fig. B — C

fig. E —

fig. G —

fig. F —



qua
liti
len
cer
dig
me
effi
plu
ant
fali
ore
aeri
sem
exci

2



3



4

PLANȘA 1.2

1.2 IMAGINI DIN ISTORIA MICROBIOLOGIEI

1 JOSEPH LISTER (1827-1912). Vestit chirurg englez, profesor de Chirurgie la Edinburgh (1869), la King's College din Londra (1877). Părintele chirurgiei antiseptice (pe baza principiilor pasteuriene). Înnobilat ca baron Lister (1902).

2 VICTOR BABEȘ (1854-1926). Vestit anatomopatolog și bacteriolog român, fotografie din 1886 când devenise cel mai tânăr profesor al Facultății de medicină din Budapesta. Și-a aprofundat studiile la profesorii Bollinger și Zimssen (München), Arnold (Heidelberg), Recklinghausen și Waldeyer (Strassbourg). Între 1882 și 1884 era la Paris în Institutul Pasteur și preparator al profesorului Victor Cornil împreună cu care a publicat primul tratat de bacteriologie din lume. A continuat cercetările în laboratoarele lui Koch și Virchow la Berlin (1884-1886). Din 1888 a fost profesor de anatomie patologică și bacteriologie la Facultatea de medicină din București. *„Numele meu a sunat ca oricare alt nume strein necunoscut la urechile comesenilor. Dar când s'a zis că sunt din România, am fost apostrofat scurt și cuprinzător – ah! vous êtes de Bucarest! Connaissez-vous le professeur Babeș, l'un des grands renoms de la science moderne?”* (relatare din Geneva într-o scrisoare a lui Dimitrie A. Sturza, președinte al Partidului liberal și viitor prim-ministru).

3 IOAN CANTACUZINO (1863-1934), fotografie din 1901 când era numit profesor de Patologie experimentală la Facultatea de medicină din București. Descendent al Cantacuzinilor, care au dat Țării Românești și Moldovei domnitori, cărturari și mari dregători. Savant cu vastă cultură umanistă. Studii la Paris: Liceul Louis le Grand (1881), licențiat în filosofie (1885), în biologie (1889) și medicină (1894). Elev al lui Ilia Mecinikov. Profesor de morfologie animală la Facultatea de științe din Iași (1894-1896). Reîntors la Paris ca asistent al lui Ilia Mecinikov până la numirea ca profesor la Facultatea de medicină din București. În 1918, la Spitalul militar francez din Iași, era decorat cu Legiunea de Onoare franceză în grad de Comandor, ocazie cu care ministrul Maurice de Saint-Aulaire îl numea *„Ambasador permanent al științei și conștiinței franceze în România”*. A semnat în 1919, ca prim delegat al României, tratatul de pace de la Trianon.

4 ALEXANDRU SLĂTINEANU (1873-1939) fondator în 1912 a Catedrei de bacteriologie la Facultatea de medicină din Iași. Licențiat în chimie la Sorbona, extern al spitalelor din Paris și doctor în medicină (1901). Elev al lui Ilia Mecinikov. *„...nu a uitat exemplele de acasă sau a străbunilor – adică grija de cei mulți obidiți. Dacă străbunicul său s-a silit să traducă versurile lui Pietro Metastazio și chiar să facă unele desene pe ediția scoasă de el la Sibiu în 1797, nepotul s-a silit să adune cărți rare, stampe de Daumier și felurite opere de artă. Dacă bunicul lui a fost printre pandurii lui Tudor Vladimirescu, doctorul Slătineanu se ocupă de țărani și muncitori pentru ca ei să ducă o viață mai omenească...nici doctorul, nici profesorul Slătineanu nu au avut o preferință pentru o problemă, și mai puțin să se anchilozeze într-o disciplină a medicinei. El vedea medicina ca un tot, ca atare nu dicotomiza cazul clinic, de faptul experimental, va utiliza laboratorul ca și spitalul în același scop și pentru același subiect și obiect: omul.”* (Dr. Constantin Bart, *„care un timp a fost colaboratorul său, iar la boală l-a vegheat până la obștescul sfârșit.”* **In memoriam**, la centenarul Profesorului în 1973, undeva în țară, **nu la Iași**).

LISTA COLABORATORILOR

(Catedra de Microbiologie, U.M.F. „Gr.T.Popa” Iași)

1. DANIELA BOSNEA	Şef de lucrări universitar, doctor medic.
2. DUMITRU BUIUC	Profesor universitar, doctor medic
3. GABRIELA COMAN	Profesor universitar, doctor medic
4. MARIA DAN	Preparator universitar, medic
5. OLIVIA DORNEANU	Şef de lucrări universitar, doctor medic
6. ROXANA FILIP	Şef de lucrări universitar, doctor medic
7. DRAGOŞ FLOREA	Asistent universitar, medic
8. LUMINIŢA SMARAMDA IANCU	Conferenţiar universitar, doctor medic
9. CARMEN PÂNZARU	Conferenţiar universitar, doctor medic
10. IRINA POPOVICI	Preparator universitar, medic
11. ANA VORNICU	Preparator universitar, medic

PREFAȚĂ

Omul, prin inteligența sa, a modificat natura, în timp istoric, și continuă să o modifice, tot mai alert, până la limitele echilibrului ecologic. Cum într-un răstimp atât de scurt nu și-a putut modifica biologic propriul organism, a intrat în criză de adaptare, manifestată printr-o patologie cu care este tot mai dur confruntat. Vezi evoluția morbidității prin tulburări psihice particulare crizei de adaptare, bolile cardiovasculare, cancerul și noua patologie infecțioasă.

Să ne limităm la aceasta din urmă. În cursul celor 30 de ani trecuți de la prima ediție a manualului au mai apărut o boală infecțioasă care face ravagii, Sindromul Imunodeficienței Dobândite (SIDA) și o a doua boală infecțioasă, Sindromul Acut Respirator Sever (SARS), prea recentă pentru a-i aprecia potențialul evolutiv; au reapărut boli infecțioase foarte grave, și agravate de context, ca tuberculoza, în general, și tuberculoza determinată de *Mycobacterium tuberculosis* multiplu rezistent la antibiotice, tuberculoza pacienților cu SIDA; în condițiile pandemiei de SIDA și a utilizării tot mai largi a imunosupresiei cunoaștem acum potențialul patogen a noi și noi microorganisme „nevinovate” cu numai 20 de ani în urmă.

Sub impactul modificării brutale a ambientului am sărăcit și sărăcim fondul genetic al organismelor superioare, care dispar specie după specie, nu însă și fondul genetic al microorganismelor – pe acesta, din contră, îl dezvoltăm. Numărul antibioticelor apărute numai în ultimii 25 de ani a crescut impresionant, dar mai impresionantă este viteza cu care microorganismele dezvoltă rezistență la aceste antibiotice, încât acum suntem confrunțați cu infecții determinate de bacterii total rezistente.

Iată numai câteva din motivele pentru care formarea medicilor (și nu numai a lor) trebuie regândită.

Din aceste evenimente biologice și microbiologice trăite de generația mea, și care se vor amplifica în generațiile următoare, decurg modificările apărute în prezenta ediție a manualului de Microbiologie Medicală, pe care l-am dorit în continuare ghid în studiul și practica medicinei:

Am amplificat mult capitolele care privesc relația microorganism – gazdă și bazele ei, în primul rând genetica microbiană. Am încercat să explicăm mai clar că, în confruntarea microorganisme – om, microorganismele prin maniera lor de „a face” au și loc (superorganismul bacterian planetar) și timp (evoluează de aproape 3 miliarde de ani cu succesiuni de ordinul minutelor între generații) pe care noi, cu toată inteligența noastră rațională, nu le avem.

Privitor la controlul infecției am amplificat capitolul care tratează bazele microbiologice ale antibioticoterapiei. Am consacrat un capitol distinct etiopatogeniei infecției nosocomiale.

După ce am explicat potențialul adaptativ și evolutiv al microorganismelor, urmează sublinierea consecințelor logice: sistemul imun știe să se confrunte mai bine cu microorganismele decât oricare dintre substanțele pe care le-am inventat de 150 de ani încoace; să revenim cu mai mare exigență la principiile pasteuriene ale antisepsiei prin agenți fizici, care omoară microorganismele și nu le permite să-și valorifice potențialul genetic; să limităm la strictul necesar (ca loc și moment) utilizarea substanțelor antimicrobiene pentru că acestea selectează

variante rezistente; să conștientizăm că dezinfectantele și insecticidele nu pot elimina mătura, apa și săpunul.

Am actualizat capitolele de microbiologie specială.

Sper că am ajuns la o prezentare mai clară a *relațiilor clinică – laborator de microbiologie*.

În fine, dar nu în ultimul rând, am amplificat privirea retrospectivă și prospectivă a conexiunilor interdisciplinare ale microbiologiei pentru că, *cine nu cunoaște istoria riscă să-i repete toate nenorocirile și este lipsit de valențele educative ale exemplelor pozitive*.

Desigur, timpul studenților este limitat. De aceea am subliniat în text, prin caractere diferențiate, noțiunile indispensabile de cele facultative, pentru moment, dar care pot fi consultate ulterior în raport cu nevoile. Nou este glosarul, util pentru accesul imediat la noțiuni.

Regândirea de această manieră a rolului microbiologiei în formarea medicului și în practica medicală este un act temerar. De aceea suntem convinși că am avut și lipsuri, care pot fi însă depășite printr-o corespondență colegială cu cititorii avizați, cărora le mulțumim anticipat.

Dumitru Buiuc, Iași 2003

DIN PREFAȚA LA PRIMA EDIȚIE

Cartea a fost concepută ca un ghid pentru lucrările practice de bacteriologie ale studenților din anul al III-lea al Facultății de Medicină și Pediatrie, într-o epocă particularizată prin evidente mutații în etiologia bolilor infecțioase – intervenția tot mai largă a bacteriilor condiționat patogene – iar experiența de trei decenii a antibioticoterapiei a amplificat scopurile diagnosticului microbiologic și a evidențiat eroarea de a considera antibioticele ca panaceu în lupta contra infecției. În materialul prezentat ne-am străduit să cuprindem de manieră comprehensivă toate aceste aspecte care ridică atâtea probleme pentru medic, indiferent de specialitate, atât din punct de vedere diagnostic și terapeutic, cât și din perspectiva combaterii și profilaxiei infecțiilor actuale.

Pentru a ușura munca studenților am plasat la sfârșitul capitolelor întrebări utile fixării cunoștințelor. Credem că, reflectând asupra răspunsurilor, studentul va sesiza mai ușor esența problemelor prezentate. Am folosit alte caractere pentru paragrafe sau subcapitole care cuprind aspecte facultative, dar utile înțelegerii mai aprofundate a unor prevederi ale programei analitice. În măsura în care studenții vor fi interesați, și vor dispune de timp, vor putea parcurge și aceste rânduri. Avem convingerea că multe capitole vor putea fi revăzute cu folos și de studenții ultimilor ani de studii.

Dumitru Buiuc, Iași 1974

CUPRINS

Lista planșelor alb – negru	XIV
Imagini color selectate și comentate: compact disc (CD) anexă (Carmen Pânzaru)	XIV
1. Introducere în studiul microbiologiei (Dumitru T. Buiuc, Irina Popovici)	1
1.1. Definiții	
1.2. Istoricul microbiologiei	
1.3. Lumea microorganismelor	
1.4. Conexiuni interdisciplinare ale microbiologiei medicale	
1.5. Locul lui Babeș și Cantacuzino în medicina românească	
1.6. Taxonomia microorganismelor	
1.7. Obiective instrucționale ale microbiologiei medicale	
2. Anatomia funcțională a bacteriilor (Dumitru T. Buiuc, Maria Dan)	21
2.1. Protoplastul bacterian	
2.2. Peretele bacterian	
2.3. Straturile S	
2.4. Glicocalixul procariot	
2.5. Organitele de locomoție ale bacteriilor	
2.6. Pili bacterieni	
2.7. Endosporii bacterieni	
2.8. Microscopia uzuală	
3. Nutriția, metabolismul și creșterea bacteriilor (Gabriela Coman)	39
3.1. Nutriția bacteriană	
3.2. Metabolismul bacterian	
3.3. Creșterea bacteriilor	
4. Virusuri (Dumitru T. Buiuc, Dragoș Florea)	52
4.1. Anatomia funcțională a virusurilor	
4.2. Cultivarea virusurilor și testarea cultivării	
4.3. Replicarea virusurilor animale	
4.4. Relațiile virus – celulă gazdă	
4.5. Taxonomie virală	
4.6. Bacteriofagii	
5. Genetica microbiană (Dumitru T. Buiuc, Ana Vornicu)	68
5.1. Genetica bacteriilor	
5.2. Genetica virusurilor	
5.3. Genetica microbiană: de la cercetarea fundamentală la inginerie	

6. Relațiile microorganism – gazdă umană (Dumitru T. Buiuc)	84
6.1. Definirea relațiilor și particularitățile lor	
6.2. Colonizarea microbiană a omului. Microbiota indigenă.	
6.3. Patogenitatea microorganismelor <i>versus</i> apărarea antimicrobiană a gazdei, o istorie continuă	
6.4. Infecția	
7. Controlul infecției	112
7.1. Bazele microbiologice ale profilaxiei infecției (Dumitru T. Buiuc, Ana Vornicu)	
7.2. Acțiunea agenților fizici și chimici asupra microorganismelor (Gabriela Coman)	
7.3. Agenți terapeutici antimicrobieni (Gabriela Coman)	
8. Stafilococi (Luminița Smaranda Iancu)	154
8.1. Stafilococi coagulază-pozitivi	
8.2. Stafilococi coagulază-negativi	
9. Streptococi și enterococi (Carmen Pânzaru)	161
9.1. Genul <i>Streptococcus</i>	
9.2. <i>Enterococcus</i>	
10. Neisseriile și moraxelele (Olivia Dorneanu)	173
10.1. <i>Neisseria</i>	
10.2. <i>Moraxella</i>	
11. Enterobacteriaceele (Gabriela Coman)	181
11.1. Caractere generale	
11.2. Genuri care includ specii cu patogenitate primară	
11.2.1. Genul <i>Escherichia</i>	
11.2.2. Genul <i>Shigella</i>	
11.2.3. Genul <i>Salmonella</i>	
11.2.4. Genul <i>Yersinia</i>	
11.3. Genuri care includ specii oportuniste	
11.3.1. Genurile <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i>	
11.3.2. Genurile <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	
11.3.3. Genul <i>Citrobacter</i>	
12. Vibrioni, Spirili și bacterii înrudite	197
12.1. Familia <i>Vibrionaceae</i> (Roxana Filip)	
12.2. Spirili (Olivia Dorneanu)	
13. Pseudomonade, acinetobacterii și alți bacili gram-negativi (Roxana Filip)	206
13.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
13.2. Alte pseudomonade cu interes medical	
13.3. Genul <i>Acinetobacter</i>	
13.4. Genurile <i>Flavobacterium</i> și <i>Alcaligenes</i>	
14. Cocobacili gram-negativi (Roxana Filip)	212
14.1. Genul <i>Haemophilus</i>	

14.2. Grupul bacterian HACEK	
14.3. <i>Gardnerella vaginalis</i>	
14.4. Genul <i>Bordetella</i>	
14.5. Genul <i>Brucella</i>	
14.6. Genul <i>Pasteurella</i>	
14.7. <i>Francisella tularensis</i>	
15. Legionele (Roxana Filip)	224
16. Bacili gram-pozitivi nesporulați (Daniela Bosnea)	227
16.1. Bacterii corineforme	
16.2. Genul <i>Listeria</i>	
16.3. <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	
17. Bacili gram-pozitivi sporulați (Daniela Bosnea)	235
17.1. Genul <i>Bacillus</i>	
17.2. Genul <i>Clostridium</i>	
18. Bacteriile anaerobe nesporulate (Daniela Bosnea)	245
18.1. Privire generală	
18.2. Bacterii anaerobe nesporulate cu interes medical	
19. Micobacteriile (Olivia Dorneanu)	252
19.1. Bacilii tuberculozei	
19.2. Micobacteriile atipice	
19.3. <i>Mycobacterium leprae</i>	
20. Spirochetele (Olivia Dorneanu)	261
20.1. Genul <i>Treponema</i>	
20.2. Genul <i>Borrelia</i>	
20.3. Genul <i>Leptospira</i>	
21. Micoplasmele (Olivia Dorneanu)	272
20.1. <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
20.2. Micoplasmele genitale	
22. Genul <i>Bartonella</i> (Dumitru T. Buiuc)	276
23. Familia <i>Rickettsiaceae</i> (Dumitru T. Buiuc)	278
23.1. <i>Rickettsia</i>	
23.2. <i>Coxiella</i>	
23.3. <i>Ehrlichia</i>	
24. Chlamidiile (Roxana Filip)	285
24.1. Genul <i>Chlamydia</i>	
24.2. Genul <i>Chlamydophila</i>	
25. Picornavirusurile (Luminița Smaranda Iancu)	290
25.1. Caractere generale	

25.2. Enterovirusurile	
25.3. Rinovirusurile	
26. Reovirusurile și alte virusuri diareigene.(Dumitru T. Buiuc)	296
27. Orthomixovirusurile (Luminița Smaranda Iancu)	298
28. Paramixovirusuri, Virusul rubeolei și Coronavirusuri	302
28.1. Familia <i>Paramyxoviridae</i> (Luminița Smaranda Iancu)	
28.2. Virusul rubeolei și alte virusuri teratogene (Dumitru T. Buiuc)	
28.3. Familia <i>Coronaviridae</i> (Dumitru T. Buiuc)	
29. Virusul rabic (Luminița Smaranda Iancu)	310
30. Parvovirusurile (Dumitru T.Buiuc)	313
30.1. Virusul B ₁₉	
30.2. Dependovirusurile umane	
31. Adenovirusurile (Luminița Smaranda Iancu)	315
32. Herpesvirusurile (Luminița Smaranda Iancu)	318
32.1. Caractere generale	
32.2. Virusurile Herpes-Simplex (VHS)	
32.3. Virusul Varicela-Zoster (VVZ)	
32.4. Virusul citomegalic (VCM)	
32.5. Virusul Epstein-Barr (VEB)	
32.6. Alte herpesvirusuri umane	
33. Poxvirusurile (Dumitru T.Buiuc)	327
33.1. Virusul variolei	
33.2. Alte poxvirusuri	
34. Arbovirusuri și Robovirusuri (Luminița Smaranda Iancu)	329
34.1. Generalități	
34.2. Patogenitate naturală și patogeneză	
34.3. Diagnosticul de laborator	
35. Virusurile hepatitei (Luminița Smaranda Iancu)	333
35.1. Virusul hepatitei A	
35.2. Virusul hepatitei E	
35.3. Virusul hepatitei B	
35.4. Virusul hepatitei D	
35.5. Virusul hepatitei C	
36. Retrovirusurile și SIDA (Luminița Smaranda Iancu)	340
36.1. Generalități	
36.2. Virusul imonodeficienței umane	
37. Oncogeneză virală (Dumitru T. Buiuc, Dragoș Florea)	347

37.1. Generalități	
37.2. Virusurile tumorale ARN	
37.3. Virusurile tumorale ADN	
38. Prionii (Dumitru T. Buiuc)	353
39. Diagnosticul de laborator al infecției (Dumitru T. Buiuc)	356
39.1. Erori și variații în investigația microbiologică clinică	
39.2. Performanțele testelor de laborator și relația cost-beneficiu	
39.3. Metodele microbiologiei clinice	
40. Hemocultura în diagnosticul infecției (Carmen Pânzaru) *	372
41. Examenul lichidului cefalorahidian în diagnosticul infecțiilor sistemului nervos central (Olivia Dorneanu) *	378
42. Examenul microbiologic al puroiului (Carmen Pânzaru) *	383
43. Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractusului respirator superior (Carmen Pânzaru) *	387
44. Diagnosticul de laborator al infecțiilor respiratorii subglotice (Dumitru T. Buiuc) *	393
45. Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractusului urinar * (Carmen Pânzaru)	398
46. Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractusului genital * (Gabriela Coman)	406
47. Diagnosticul infecțiilor perinatale (Carmen Pânzaru)	414
48. Examenul microbiologic în sindromul diareic infecțios * (Carmen Pânzaru)	418
49. Investigația etiologică în toxiinfecțiile alimentare (Ana Vornicu)	423
50. Infecția nosocomială (Dumitru T. Buiuc, Ana Vornicu)	429
Glosar (Ana Vornicu)	439
Bibliografia	476
Index alfabetic (Dragoș Florea)	480

LISTA PLANȘELOR ALB-NEGRU

După pagina 20

- 1.1 Imagini din istoria microbiologiei
- 1.2 Imagini din istoria microbiologiei
- 1.3 Imagini din istoria microbiologiei

După pagina 38

- 2.1 Anatomia funcțională a bacteriilor
- 2.2 Anatomia funcțională a bacteriilor
- 2.3 Anatomia funcțională a bacteriilor și noțiuni de microscopie

După pagina 67

- 4.1 Anatomia funcțională a virusurilor
- 4.2 Culturi celulare și efecte citopatice determinate de virusuri
- 4.3 Efecte citopatice determinate de virusuri
- 4.4 Efecte citopatice determinate de virusuri. Replicarea virală
- 4.5 Ciclul replicativ al bacteriofagilor; tipuri de bacteriofagi
- 4.6 Lizotipia

După pagina 83

- 5.1 Transpoziția și conjugarea bacteriană
- 6.1 Colonizarea bacteriană normală a învelișurilor; apărarea antiinfecțioasă a epiteliului respirator; efectul bacteriolitic al complementului

LISTA IMAGINILOR COLOR ce apar pe compact discul anexat volumului la cerere

2-1. Colorația Gram.

2-2. Controlul de calitate a colorației Gram.

2-3. Colorația Ziehl-Neelsen.

3-1. Creșterea satelită a *Haemophilus influenzae* în jurul striei de cultură a *Staphylococcus aureus*.

7-1. Testul biologic de control al sterilizării la autoclav.

7-2. Detectarea rapidă a β -lactamazelor prin testul cu nitrocefîn.

8-1. *Staphylococcus aureus*, frotiu din puroi.

8-2. *Staphylococcus aureus*, frotiu din cultură.

8-3. Stafilococi în cultură pe geloză-sânge. *Staphylococcus aureus*, coloniile mari galben-aurii și cu β -hemoliză; *S.epidermidis*, coloniile mici albe, nehemolitice.

-
- 8-4. Infecții stafilococice – furuncul al cefei.
- 8-5. Infecții stafilococice – sindromul pielii opărite.
- 9-1. Cultură pe geloză-sânge a unui streptococ β -hemolitic: *Streptococcus pyogenes*.
- 9-1 bis. Tipurile de colonii ale *S. pyogenes*.
- 9-2. Cultură pe geloză-sânge a unui streptococ α -hemolitic: streptococ viridans.
- 9-3. Frotiu din cultură de *Streptococcus pyogenes*.
- 9-4. Infecții streptococice – impetigo.
- 9-5. Frotiu din puroi: *Streptococcus pyogenes*.
- 9-6. Testul sensibilității la bacitracină și la cotrimoxazol: streptococ de grup A.
- 9-7. Testul sensibilității la bacitracină și la cotrimoxazol: streptococ non-grup A.
- 9-8. Testul CAMP: streptococ grup B.
- 9-9. *Streptococcus pneumoniae*: α -hemoliză pe geloză-sânge.
- 9-10. *Streptococcus pneumoniae*. Colonii în curs de autoliză pe geloză-sânge (detaliu).
- 9-11. Scorul de calitate al sputei. Spută Q = +3.
- 9-12. *Streptococcus pneumoniae* pe frotiu din sputa unui bolnav cu pneumonie.
- 9-13. Spută cu scorul Q = 0.
- 9-14. Celule epiteliale scuamoase (CES) cu microorganisme de contaminare, Q < 1.
- 9-15. *Streptococcus pneumoniae*, testul sensibilității la optochin.
- 9-16. *Streptococcus pneumoniae*, depistarea polizaharidului capsular prin latexaglutinare.
- 10-1. Frotiu din puroi uretral colorație cu albastru de metilen: gonococi.
- 10-2. Frotiu din sediment LCR colorație Gram: meningococi.
- 10-3. Meningită meningococică – zone de necroză și peteșii.
- 10-4. Meningococcemie – erupție hemoragică.
- 11-1. *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*) frotiu din cultură, colorație Gram.
- 11-2. *Klebsiella pneumoniae*, amprentă de splină colorată Gram.
- 11-3. *Klebsiella pneumoniae*, cultura pe mediul MacConkey.
- 11-4. *Proteus*, cultivarea sub forma vâlvurilor concentrice.
-

-
- 11-5. *Enterobacteriaceae*, cultură pe mediul MacConkey.
- 11-6. Coprocultură pe mediul Hektoen.
- 11-7. Aspectul microscopic al culturii de celule HEp-2 inoculată cu *E. coli* enteropatogen.
- 11-8. Aspectul microscopic al culturii de celule HEp-2 inoculată cu *E. coli* enteroagregativ.
- 11-9. Aspectul microscopic al culturii de celule HEp-2 inoculată cu *E. coli* aderent difuz.
- 11-10. Bubon pestos.
- 11-11. *Yersinia pestis* aspirat din bubon colorația Leishmann.
- 11-11 bis. *Yersinia pestis* aspirat din bubon colorația Gram.
- 11-12. Cultură de *Proteus*: fenomenul Dienes.
- 12-1. *Campylobacter jejuni* frotiu din scaun diareic, colorația cu albastru de metilen.
- 12-2. *Helicobacter pylori* frotiu din biopsie gastrică, colorația Gram.
- 12-3. *Helicobacter pylori* testul ureazei cu fragment biopsic din mucoasa gastrică.
- 13-1. *Pseudomonas aeruginosa* frotiu din cultură, colorație Gram.
- 13-2. *Pseudomonas aeruginosa* cultură pe geloză nutritivă.
- 13-3. *Pseudomonas aeruginosa* cultură pe geloză-sânge.
- 14-1. Frotiu din spută colorat Gram: *Haemophilus influenzae*.
- 14-2. Frotiu din spută: *Haemophilus influenzae* (alb-negru).
- 16-1. *Corynebacterium diphtheriae* frotiu din cultură pe mediul Loeffler, colorație Gram.
- 16-2. *Corynebacterium diphtheriae* cultură pe mediul Tinsdale (1/1).
- 16-3. Difterie: aspectul faringelui cu prezența falselor membrane.
- 16-4. Difterie: desen al falselor membrane.
- 16-5. Difterie: tumefacția gâtului.
- 16-6. *Listeria monocytogenes* frotiu din cultură.
- 16-7. *Listeria monocytogenes* cultură pe geloză-sânge de 72 ore (1/1).
- 16-8. *Listeria monocytogenes* cultură pe geloză-sânge de 24 ore (detaliu, 3X).
- 16-9. *Listeria monocytogenes* cultură de 24 ore pe mediul selectiv PALCAM (1/1)

-
- 17-1. *Bacillus anthracis* amprentă din splină de șoarece, colorată cu albastru de metilen policrom.
- 17-2. *Bacillus anthracis* frotiu din cultură.
- 17-3. *Bacillus anthracis* cultură de 24 ore pe geloză nutritivă (1/1).
- 17-4. *Bacillus anthracis* cultură de 24 ore pe geloză nutritivă (detaliu, 3X).
- 17-5. *Bacillus anthracis* cultură de 24 ore pe geloză-sânge. Comparativ cu *B.cereus* (1/1).
- 17-6. *Bacillus anthracis* cultură pe geloză-sânge de 24 ore (detaliu 3X).
- 17-7. Cărbune cutanat forma buloasă.
- 17-8. Cărbune cutanat leziune necrotică.
- 17-9. *Bacillus cereus* producere de lecitinază.
- 17-10. Clostridie cu spori ovali subterminali, frotiu din cultură.
- 17-11. *Clostridium tetani* frotiu din cultură.
- 17-12. *Clostridium perfringens* frotiu din cultură.
- 17-13. *Clostridium tetani* cultură pe geloză-sânge.
- 17-14. *Clostridium perfringens* cultură pe geloză-sânge.
- 17-15. Clostridii, cultură în coloană de geloză moale în tub Weinberg.
- 17-6. *Clostridium perfringens* testul de neutralizare a α toxinei.
- 18-1. *Actinomyces* frotiu din cultură colorat Gram.
- 18-2. Actinomicoză: „granule de sulf”.
- 18-3. *Prevotella melaninogenica*, *Bacteroides*, *Fusobacterium* cultură de 5 zile pe mediul Wilkins-Chalgren (detaliu, 4X).
- 18-4. Angina Vincent, examen microscopic: asociația fusospirilară.
- 19-1. *Mycobacterium tuberculosis* frotiu din spută colorația Ziehl-Neelsen.
- 19-2. *Mycobacterium tuberculosis* așezarea în corzi.
- 19-3. *Mycobacterium tuberculosis* cultură de 4 săptămâni pe mediul Löwestein Jensen.
- 19-4. Micobacterii fotocromogene: cultură pe mediul Löwestein Jensen de 3 săptămâni:
- a. *M. marinum*
 - b. *M. kansasii*
 - c. *M. simiae*

-
- 19-5. Micobacterii scotocromogene: cultură pe mediul Löwestein Jensen de 2 săptămâni.
a. *M. gordonae*
b. *M. flavescens*
- 19-6. Micobacterii cu creștere rapidă: cultură pe mediul Löwestein-Jensen. Primele colonii observate după 6 zile. Fotografiiile culturilor în vârstă de 8 zile.
a. *M. chelonae*
b. *M. fortuitum*
- 19-7. *Mycobacterium leprae* frotiu din raclatul unei leziuni ulcerate, colorație Ziehl–Neelsen modificată. Globi leproși.
- 19-8. Lepră tuberculoidă.
- 19-9. Lepră lepromatoasă.
- 19-9 bis. Lepră lepromatoasă: facies leonin.
- 20-1. *Treponema pallidum*, microscopie pe fond negru din exsudatul unui șancru sifilitic.
- 20-2. Șancru sifilitic al penisului.
- 20-3. Leziuni eruptive ale sifilisului secundar.
- 20-4. Sifilis terțiar: goma.
- 20-5. Pian: șancru de inoculare.
- 20-6. *Borrelia recurrentis* frotiu din sânge în cursul unui acces febril, colorație Giemsa.
- 20-7. *Leptospira*: microscopie pe fond negru.
- 21-1. *Mycoplasma pneumoniae*, proteina P₁ și funcția de adezină.
- 21-1 bis. *Mycoplasma pneumoniae*, proteina P₁ și funcția de adezină.
- 28-1. Rujeolă: aspectul erupției.
- 32-1. Herpes labial.
- 32-2. Herpes genital.
- 32-3. Varicelă: erupția.
- 32-4. Herpes zoster.
- 33-1. Variolă: erupția.
- 40-1. Hemocultură în mediu difazic.

INTRODUCERE ÎN STUDIUL MICROBIOLOGIEI

1

DUMITRU T. BUIUC, IRINA POPOVICI

„În domeniul științelor de observație întâmplarea nu favorizează decât spiritele pregătite.”

LOUIS PASTEUR

„Aș vedea mult mai bine grădina, își spuse Alice, dacă aș putea să ajung în vârful colinei; și există o cărare...Dar ce cotituri ciudate face!”

LEWIS CARROL

1.1. DEFINIȚII

Microbiologia este un ansamblu de discipline experimentale care studiază microorganismele și activitățile lor.

Microorganismele pot fi observate numai prin microscopie. Prima dată au fost văzute de olandezul Antonius van Leeuwenhoek (planșa 1.1,1). Excelent observator, Leeuwenhoek a studiat, cu microscopie pe care și le construia, lumea cuprinsă în picături de salivă, sânge, suspensie a propriilor fecale, de must al berii, apă de râu, infuzii de piper. Începând cu 1673 a comunicat Societății Regale din Londra observațiile sale în peste 200 de scrisori, din care multe semnalează existența unor minuscule formațiuni animate de mișcări, motiv pentru care le-a numit *animalculi* (planșa 1.1,2). Prin comparație cu hematiile, cu grăunțele de nisip etc., a măsurat *animalculii* și preciza că unii „sunt de o mie de ori mai mici decât ochiul unui purice”. În desenele lui Leeuwenhoek identificăm astăzi protozoare, bacterii și levuri.

Activitățile microorganismelor – în esență nutriția, metabolismul, creșterea și înmulțirea – au fost studiate abia din secolul XIX. Dar efecte ale acestor activități erau cunoscute încă din preistorie și apar consemnate în texte antice. Pragmatici, strămoșii noștri căutau mai ales să le obțină (e.g., fermentațiile implicate în acrirea laptelui și prepararea brânzeturilor, transformarea mustului de struguri în vin, dospirea aluatului pentru pâine) ori să le evite (e.g., bolile contagioase). Doar filosofi, poeți ori medici reflectau asupra cauzelor posibile, fără a depăși stadiul de simple ipoteze.

1.2. ISTORICUL MICROBIOLOGIEI

„Nu cunoaștem bine o știință dacă nu îi cunoaștem istoria.”

AUGUSTE COMTE

Fermentațiile și putrefacția. Sacerdoții egipteni îmbălsămau cadavre eviscerate pentru a întârzia putrefacția, pe care o credeau cauzată de un spirit din intestin. Biblia consemnează: „*Atunci a început Noe să fie lucrător de pământ și a sădit vie. A băut vin și, îmbătându-se, s-a dezvelit în cortul său.*” (*Geneza* 9: 20, 21). Cultul elenic al lui Dionysos era legat de efectul euforizant al vinului. Deși fierberea, spumarea mustului și căldura degajată în cursul vinificației erau știute de mult, abia în secolele X–XI alchimistii, prin distilarea vinului, au identificat alcoolul ca principiu euforizant al băuturilor spirtoase.

Bolile contagioase făceau ravagii, încât cauza lor era considerată a fi „*mânia zeilor*”. Dar Hippocrate

Introducere în microbiologie

(460–377 a. Chr.), medic din Cos, căuta cauza acestor boli în aer, apă, sol și afirma că *miasmele* – gaze putride care provin din alterarea resturilor animale sau vegetale pe cale de descompunere și transportate în aer, mai ales în căldura umedă – transmit bolile contagioase. Poetul roman Titus Lucretius Carus (98–55 a. Chr.) explica apariția peștei prin „germenii bolii și ai morții”.

Microbiologia, știință experimentală, a apărut când savanții au demonstrat că *animalculii* sunt cei care provoacă putrefacția, fermentații ori boli. Metodele și facilitățile de studiu au fost imaginate abia pe parcursul a două secole de dispute savante în jurul a două ipoteze: ipoteza heterogeniei, animalculii se nasc spontan din materia organică în putrefacție sau fermentație, și cea a germenilor drept cauză de boală. A mai existat un impuls al cercetărilor care au dus, începând cu anii 1860, la nașterea microbiologiei: crize industriale și criza chirurgiei. Câteva decenii după revoluția industrială au intrat în impas industria băuturilor fermentate (bolile vinului) ori cea a mătăsii (bolile viermilor de mătase). Chirurgia, revoluționată de introducerea anesteziei generale cu eter (William G. Morton, 1846), era în criză din cauza mortalității post-operatorii de peste 60% după marile amputații, o mortalitate asemănătoare cu cea din maternitățile vremii.

„Glăsuie îndată și-i zice lui Tetis...

«Eu mă-narmez și mă duc, dar foarte mi-e-n grijă de una:

Cât oi fi eu la război, să nu dea de mort și să intre

Muștele-n ranele-i pricinuite de suliți, să nască

Viermi rozători și să-l facă batjocură, schimonosindu-l

Trupul de viață lipsit și putred s-ajungă cu totul».

Zâna picioare-de-argint așa lui Achile-i răspunse:

«Eu am să-l apăr pe el de necruțătoarele goange.»”

ILIADA XIX: 23-27

Infirmarea ipotezei heterogeniei. Această ipoteză era variantă a „teoriei generației spontane”. Aristotel (384–322 a. Chr.) credea că anghilele se nasc spontan din nămol. Francesco Redi (1626–1697) a infirmat ipoteza arătând că este suficient să protejezi, printr-o bucată de pânză, carnea dintr-un vas de accesul muștelor pentru a împiedica apariția viermilor. Deci viermii se nasc nu spontan, ci din ouăle muștelor. Deși Leeuwenhoek considera că *animalculii* provin din aerul unde ei există ca „germeni” ori „semințe”, naturalistul francez Georges Louis de Buffon (1707–1788) și abatele englez John Needham (1713–1781) susțineau că moleculele inerte din lichidele organice se pot grupa pentru a forma *animalculi*. Aceasta era ipoteza heterogeniei: că *animalculi* se nasc spontan în lichidele organice.

Italianul Lazaro Spallanzani (1729–1799) a publicat în 1765 un memoriu în care demonstra că bulionul de carne limpede și fiert se tulbura în câteva zile, cu apariția de *animalculi*, dacă era lăsat în contact cu aerul, dar rămânea indefinit limpede iar *animalculi* nu apăreau când era menținut în balon ermetic închis. Contraargumentul lui Needham, că *animalculi* apar numai la contactul bulionului cu aer proaspăt, a fost combătut de germanii Theodor Schwann și Franz Schultze (1810) apoi de Theodor von Dusch și Heinrich Schröder (1854). Schwann și Schultze au atras în balonul cu bulion fiert aer trecut printr-o spirală înfierbântată (fig. 1-1A). Bulionul rămânea limpede. Că încălzirea nu denaturează capacitatea de a genera *animalculi* a aerului au demonstrat-o von Dusch și Schröder, care au atras în balonul cu bulion aer trecut printr-un filtru de vată (fig. 1-1B).

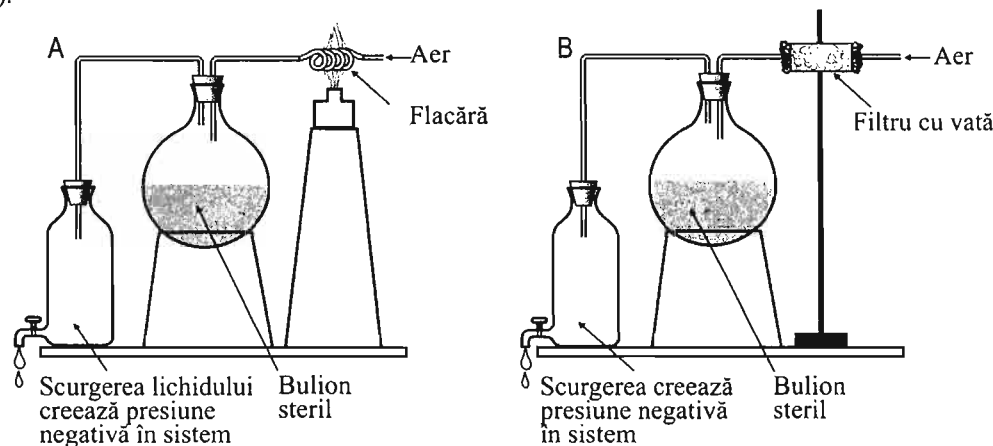


Fig 1-1 Dispozitive pentru sterilizarea aerului în experimentele care au discreditat ipoteza heterogeniei: **A** experimentul lui Schwann și Schultze, **B** experimentul lui von Dusch și Schröder

În 1836 disputa trecea din laborator în practica fermentațiilor. Louis Joseph Gay Lussac formulase deja ecuația fermentației alcoolice (1810) după primele determinări cantitative făcute de Antoine Laurent de Lavoisier (1789). Acum inginerul francez Charles Cagniard-Latour (1777–1859) semnala că mustul în fermentare conține globule similare cu cele din drojdia de bere și susținea că sunt organisme vii, care se înmulțesc prin înmugurire iar rezultatul activității lor vitale este transformarea glucozei în alcool și CO₂. Le considera plante pentru că erau imobile, dar nu preciza cum apăreau. Pentru unii erau simple precipitate albuminoase care catalizează fermentația, pentru alții ființe vii, dar nu cauză, ci efect al fermentației. În anii 1850 industria franceză a vinului intra în impas amenințator din cauza unor perturbări ale fermentării mustului. Erau „bolile vinului”: boala îngroșării (vinuri filante, uleioase), boala amărării etc. Tocmai atunci un chimist genial, Louis Pasteur (planșa 1.1,3) studia fermentația alcoolică, descoperirea fermentația lactică, butirică și acetică. El preciza că fiecare dintre noile fermentații era cauzată de *fermenți* morfologic diferiți de cei ai fermentației alcoolice și că fermentația butirică, spre deosebire de celelalte, are loc numai în absența oxigenului. A mai constatat că levura care fermentează berea este facultativ anaerobă și, pornind de aici, a descris efectul Pasteur, cunoscut de voi când ați studiat metabolismul glucozei. Pasteur a imaginat în 1861 *balonul cu gât de lebedă* (fig.1-2) în care aerul avea acces direct, dar mustul rămânea limpede pentru că fermenții din aer erau opriți în meandrele tubului care prelungea gâtul balonului. Era suficient ca, printr-un tub lateral astupat cu vată și folosind o pipetă capilară, să introducă în balon o picătură de must în fierbere pentru ca fermentația să înceapă și în mustul limpede. Nu același lucru se întâmpla când introducea o picătură de suc aspirat din boabe ale unui ciurcine crescut și copt într-un cilindru de sticlă astupat cu vată la ambele capete. Studiile făcute l-au convins pe Pasteur că bolile vinului și berii apar prin contaminarea mustului cu alte microorganisme decât levurile (*fermenții*) normale și că pot fi prevenite prin încălzirea acestor băuturi la 50°–60°C urmată de răcire bruscă, procedeu utilizat și astăzi, la scară industrială, și cunoscut sub numele de **pasteurizare**. Pasteur și-a sintetizat observațiile din experimentele privind fermentațiile în cinci memorii rămase celebre: „Fermentațiile” (1857–1863), „Generațiile zise spontane” (1860–1866), „Studii asupra oțetului” (1861), „Studii asupra vinului” (1866), „Studii asupra berei” (1876). Heterogenia era de acum o simplă ipoteză aparținând istoriei.

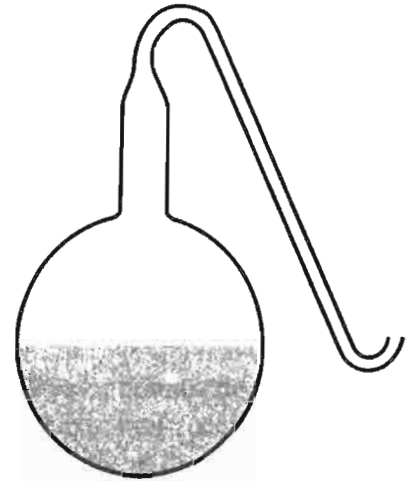


Fig 1-2 Balonul cu gât de lebedă imaginat de Pasteur a infirmat ipoteza heterogeniei

Confirmarea teoriei germenilor. În 1762 Antonius von Plenciz (1705–1786) relua o idee mai veche a medicului italian Girolamo Fracastoro (1468–1553), aceea că anumiți *germeni* (agenți vii, *seminaria morbi* în concepția lui Fracastoro) produc anumite boli.

Din primele decenii ale secolului XIX datează observații că injectarea de puroi la animale determina infecții asemănătoare celor umane: abcese diseminate, infecția putridă a sângelui (septicemie). Chiar Pasteur se referea la aceste boli cu termenul de fermentații putride.

În 1837 italianul Agostino Bassi (1773–1856) demonstra că muscardina, o boală contagioasă a viermilor de mătase, era determinată de un fung numit, mai târziu, în onoarea sa *Botrytis bassiana*. După 30 de ani Pasteur studia alte două boli contagioase ale viermilor de mătase, flășeria și pebrina, care produceau pierderi mari crescătorilor de viermi și industriei mătăsii din Franța. Într-un voluminos memoriu, „Studii asupra bolii viermilor de mătase” (1870), recomanda măsuri pentru prevenirea și combaterea acestor boli.

La mijlocul secolului XIX, o boală contagioasă, mortală, a vitelor făcea ravagii în turme și cirezi. În 1850 Pierre François Rayer și Casimir-Joseph Davaine descoperiseră, microscopic, în sângele animalelor moarte prin antrax niște filamente pe care le considerau cauza bolii pentru că un asemenea sânge injectat la animale sănătoase le îmbolnăvea. Au fost dispute: filamentele observate în sânge erau cauza sau efectul antraxului? Acestor controverse le-au pus capăt studiile lui Pasteur, dar mai ales ale lui Robert Koch (planșa 1.1,4). La acea vreme Koch era un tânăr medic în plasa Wollstein din Prusia. El observa la microscop microorganisme pe care le cultiva în picături suspendate de ser sanguin (cum este sugerat în fig.1-3). Într-o asemenea picătură a depus o infimă cantitate din sângele unui animal mort de antrax iar în altă picătură din sângele unui animal sănătos. După un timp, microscopul i-a arătat apariția filamentelor în prima picătură și absența lor în a doua. A injectat cele două picături la animale diferite. Animalul injectat cu serul în care apăruseră filamente s-a îmbolnăvit de antrax și a murit, celălalt a rămas sănătos. Animalele injectate cu alte microorganisme asemănătoare morfologic cu cel care determină antraxul (e.g., microorganisme din infuzia de fân) fie că făceau alte boli, fie nu se îmbolnăveau.

Rezultatele acestor experimente au fost publicate în 1876 într-un memoriu devenit

Introducere în microbiologie

istoric. Din acest memoriu au fost deduse **cele trei postulate ale lui Koch**, care fundamentează experimental teoria germeilor și stau la baza diagnosticului etiologic al bolilor infecțioase:

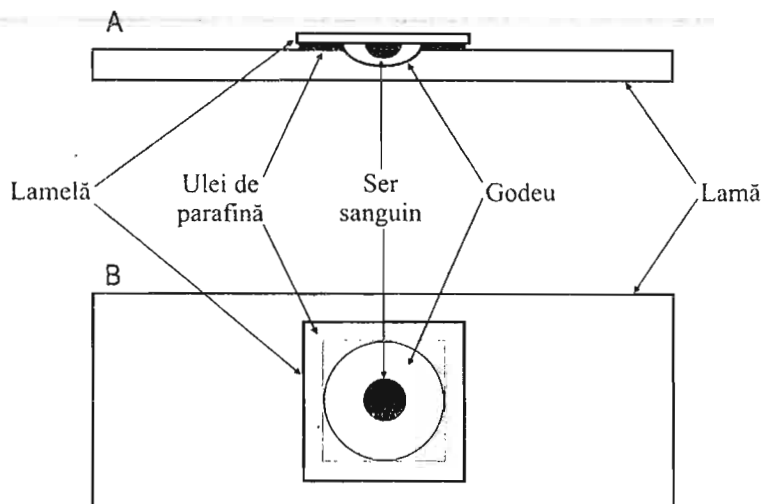
(1) Microorganismul trebuie să se găsească la toți bolnavii suferind de o anumită boală infecțioasă, distribuit în corpul bolnavilor în raport cu leziunile observate.

(2) Microorganismul trebuie izolat din corpul bolnavului și menținut în culturi pure mai multe generații.

(3) Cultura pură inoculată la un animal receptiv trebuie să determine boala tipică.

Disputele privind heterogenia și teoria germeilor ne-au lăsat primele metode și tehnici pentru studiul microorganismelor și activităților acestora: • primul mediu de cultivare

Fig 1-3 Picătura suspendată de ser sanguin în care Koch a izolat bacteridia cărbunoasă din sângele unui animal bolnav de antrax iar cu bacteridia izolată a indus experimental boala. Astfel a fost confirmată teoria germeilor.



(bulionul de carne), • modalitatea macroscopică de urmărire a cultivării (tulburarea bulionului), • primele metode de sterilizare (prin căldură și prin filtrare), • o importantă metodă de conservare (pasteurizarea), • un instrument pentru manipularea microorganismelor (pipeta capilară Pasteur), • primele metode pentru studiul metabolismului microorganismelor (diferitele fermentații), • un principiu al asepsiei (manipularea la adăpost de pulberile din aer). Aceste metode și tehnici au fost dezvoltate ulterior în școlile lui Pasteur și Koch (tabelul 1-1).

Repere semantice. Microorganismele au purtat nume diferite de-a lungul vremii, în raport cu cunoștințele asupra lor: *miasme*, *germeni*, *animalculi*, *fermenți* etc. Numele de *microb* a fost inventat de un chirurg, Charles Sédillot (1804–1883), care l-a folosit prima dată în 1878 în comunicarea „Despre influența lucrărilor D-lui Pasteur asupra dezvoltării chirurgiei” prezentată Academiei de Științe din Paris. Deși acceptat de filologi, termenul de *microb* nu a pătruns în mediul academic și rămâne doar de uz comun. Termenul științific este cel de *microorganism*. Numai ocazional mai este utilizat, cu tentă de arhaism, numele de *germen*.

1.3. LUMEA MICROORGANISMELOR

Lumea microorganismelor este vastă, diversă și am cunoscut-o pe măsura perfecționării metodelor de studiu. Diferențiem microorganisme celulare și microorganisme acelulare.

(1) **Microorganismele celulare** includ protozoarele, fungii microscopici, bacteriile, algele albastre sau cianobacteriile. Au, în general, toate *cele trei atribute ale vieții*: *flux material*, *flux energetic* și *flux informațional*.

Tabelul 1-1 O cronologie a dezvoltării tehnicilor microbiologice elementare

1673 ș.u. A. van LEEUWENHOEK	Construiește microscopae cu aberațiile lentilelor corectate și, folosind tehnici originale de iluminare, observă primul microorganism.
1867 L. SPALLANZANI	Prima argumentare că aerul vehiculează germeni vitali în lichide putrescibile. Bulionul de carne încălzit convenabil în recipiente ermetic închise rămâne indefinit limpede: primul experiment care implică acțiunea căldurii asupra vitalității microorganismelor și prima manipulare aseptică (la adăpost de microorganisme).
1836 T. SCHWANN și F. SCHULTZE 1854 T. von DUSCH și H. SCHRÖDER	Reiau experimentul lui Spallanzani. Pentru a nu închide ermetic recipientul cu bulion fiert, imaginează primele dispozitive de decontaminare a aerului: un tub spiralat și încălzit în flacără și respectiv un filtru din vată prin care aerul are acces spre bulionul fiert.
1850 P.F. RAYER și C. J. DAVAINÉ	Observă bacteridia cărbunoasă sub forma unor filamente în sângele animalelor bolnave de antrax.
1860-1864 L. PASTEUR	Imaginează <i>balonul cu gât de lebădă</i> , care decontaminează aerul prin sedimentarea pulberilor în meandrele tubului efilat care continuă gâtul balonului. În contact cu un asemenea aer, mustul de struguri sau bulionul de carne fierte rămân limpezi. Pipeta capilară Pasteur.
1876 R. KOCH	Memoriul privind izolarea și cultivarea <i>in vitro</i> a bacteridiei cărbunoase cu care determină antraxul experimental. <i>Baza postulatelor lui Koch</i> .
1876 L. PASTEUR	Conservarea prin pasteurizare.
1877 R. KOCH	Tehnici de fixare și colorare a bacteriilor.
1877 L. PASTEUR și CH. CHAMBERLAND	Sterilizarea prin căldură umedă sub presiune (autoclavarea).
1877 JOHN TYNDALL	Argumentul decisiv că pulberile transmit microorganisme: bulionul de carne fiert și limpede expus la aer în tuburi deschise într-o cameră obscură rămâne limpede dacă în cameră nu se observă fenomenul Tyndall (absența pulberilor), dar se tulbură după ce fenomenul este produs prin introducerea în cameră a unei pulberi (fig. 1-8); baza experimentală a aseptiei.
1878 JOSEPH LISTER	Izolarea bacteriilor lactice prin diluții seriate în mediu lichid.
1881 J. TYNDALL	Constată termorezistența diferențiată la fierbere a microorganismelor și concepe sterilizarea fracționată (tyndallizarea).
1881 R. KOCH și G. WOLFFHÜGEL	Sterilizarea prin aer cald
1882 R. KOCH	„Über Tuberculose” (Premiul Nobel, 1905)
1883 CH. CHAMBERLAND	Filtrul din porțelan nesmălțuit.
1884 CHRISTIAN GRAM	Colorarea diferențială a bacteriilor (colorația Gram).
1887 RICHARD JULIUS PETRI	Inventează cutia Petri.
1892 D. IVANOWSKI	Mozaicul tutunului este cauzat de un agent infecțios filtrabil.

- **Fungii și protozoarele** sunt microorganisme eucariote.
- **Bacteriile** sunt procariote, adică au structură celulară primitivă particularizată prin

lipsa oricărui sistem intern de membrane și prezența unui singur cromosom (fig.1-4 *versus* 1-5). Ca urmare a adaptării la parazitismul strict intracelular, unele bacterii au pierdut capacitatea de a iniția catabolismul glucozei: *rickettsiile* sunt total dependente de coenzima A a celulei gazdă și inițiază metabolismul energetic numai din acizi tricarboxilici; altele au pierdut în totalitate metabolismul energetic: *chlamidiile* sunt complet dependente de ATP-ul celulei gazdă. *Algele albastre* sunt bacterii fotosintetizante.

(2) **Microorganismele acelulare**, virusurile și viroizii, au numai flux informațional.

• **Virusurile** sunt metabolic inerte, nu au mecanisme necesare sintezei proteice, producerii și stocării energiei. Ca atare, virusurile nu cresc, nu se divid, ci sunt reproduse de către o celulă pe care o parazitează la nivel genetic.

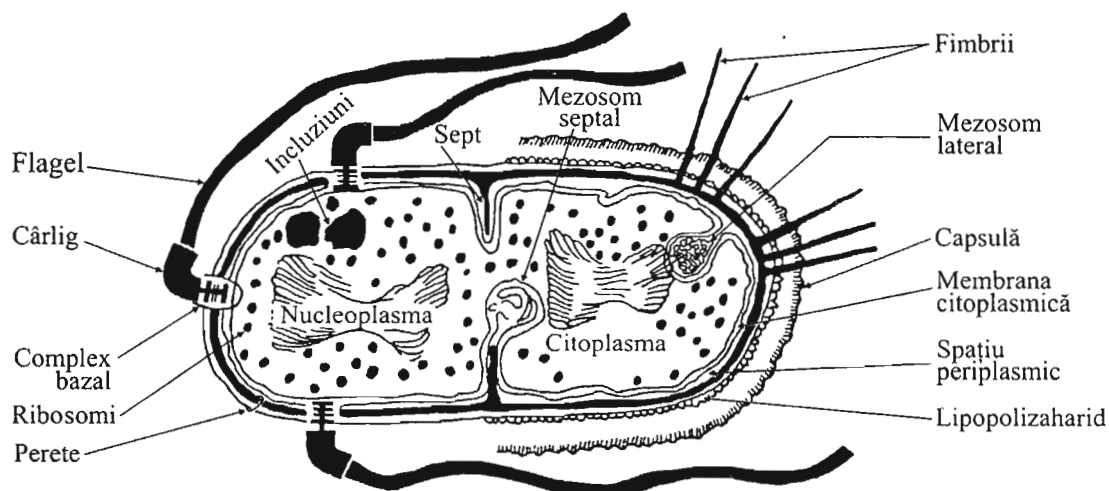


Fig 1-4 Secțiune schematică printr-o celulă procariotă

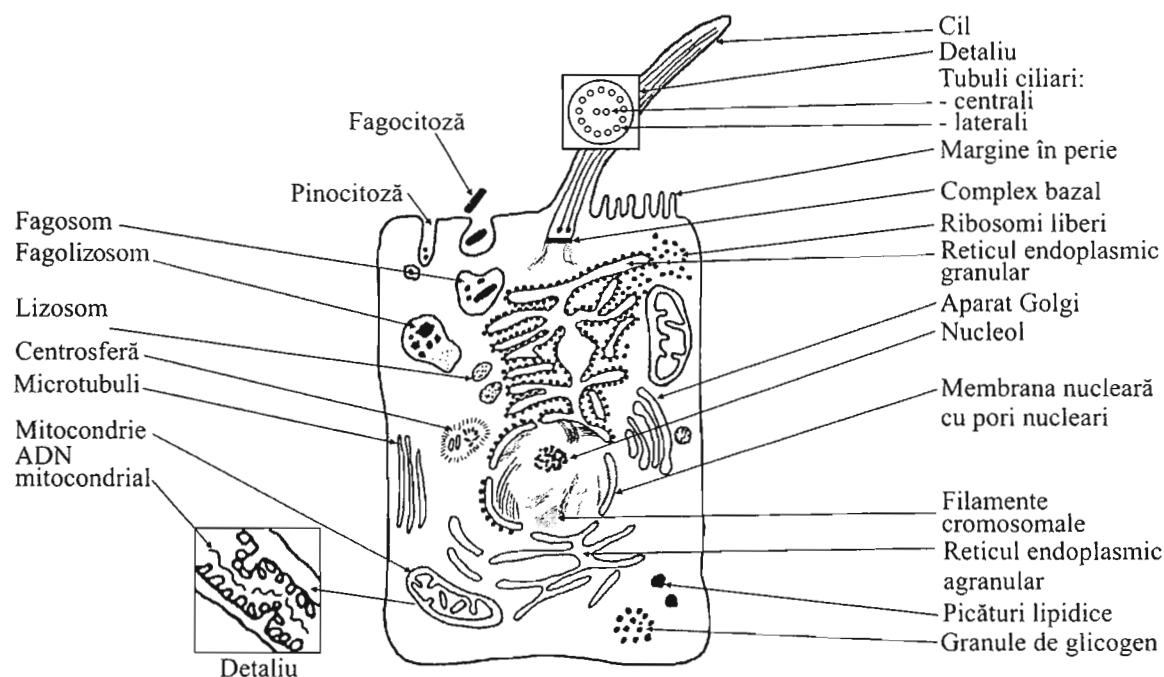


Fig 1-5 Secțiune schematică printr-o celulă eucariotă

• **Viroizii** sunt mici molecule de ARN nud, pe care îi cunoaștem doar ca agenți infecțioși ai plantelor. Nici unul nu a fost depistat în celule animale.

• **Prionii** sunt izomorfe ale unei molecule proteice normale din membrana citoplasmică. Apar prin mutații punctiforme în gena care codifică proteina normală, dar pot fi transmiși pe orizontală (de la un organism adult la altul), intra- sau interspecific. În prezența prionilor exogeni proteina prionică normală suferă modificări post-tranlaționale, care au creat impresia replicării lor. De aceea *prionii sunt agenți pseudoinfecțioși* iar bolile, inevitabil mortale, pe care le produc le numim pseudoinfecții. Le-am rezervat prionilor un capitol în acest manual doar pentru că inițial au fost studiați prin metode virologice, un timp fiind considerați chiar virusuri particulare.

Disciplinele microbiologice sunt tot atât de variate ca și microorganismele ori activitățile lor. Unele sunt *fundamentale*: protozoologia, micologia, bacteriologia, virologia, genetica și taxonomia microbiană. Altele sunt *aplicative*, în variate domenii, cum sunt: medicina umană și veterinară, agricultura, zootehnia, variate biotehnologii. Chiar și genetica microbiană a dat naștere unei discipline tehnologice: ingineria genetică.

1.4. CONEXIUNI INTERDISCIPLINARE ALE MICROBIOLOGIEI MEDICALE

Conexiunile cu biochimia, chirurgia, morfopatologia, patologia experimentală, epidemiologia, imunologia și biologia moleculară sunt istoric determinate și vă vor ajuta să înțelegeți mai bine și să aprofundați studiul acestor discipline.

Alte conexiuni aduc fondul apercceptiv pentru înțelegerea microbiologiei medicale: cu biofizica pentru înțelegerea funcționării unor structuri bacteriene (membrana citoplasmică, membrana externă etc.), cu anatomia și histologia pentru înțelegerea funcționării unor bariere antimicrobiene mecanice (epiderm, corionul mucoaselor, țesutul conjunctiv dens, transportul mucociliar, spălarea membranelor mucoase prin secreții și excrete) ș.a.

(1) **Conexiuni cu biochimia.** Corelarea de către Pasteur a diferitelor fermentații cu microorganisme specifice a fost una din bazele microbiologiei. Deși în 1877 Moritz Traube afirma intuitiv că fermentațiile sunt realizate de fermenți intracelulari de natură proteică, Pasteur în 1878 mai susținea că fermentația este rezultatul „forței vitale” a întregii celule. Abia în 1898 Edouard Büchner separa din levură extracte care fermentau, *in vitro*, glucoza cu producere de alcool în absența oricărei celule. Date importante privind legăturile reciproce dintre microbiologie și biochimie găsiți în tabelul 1-2.

(2) **Conexiuni cu chirurgia.** La mijlocul secolului XIX, încă înainte de apariția microbiologiei, doi obstetricieni, Oliver Wendell Holmes, la Boston, și Ignác Fülöp Semmelweis, la Viena, publicau, independent unul de altul, observațiile lor privind transmiterea febrei puerperale de la lehuzele bolnave și cadavre la lehuzele sănătoase prin instrumentarul și mâinile medicilor contaminate cu lohii și sânge. Holmes scria în 1843: „*Women in childbed should never be attended by physicians who have been conducting postmortem sections or cases of puerperal fever*”. Semmelweis indica utilizarea de instrumente separate la necropsii, la consultul bolnavelor și al lehzelor sănătoase. Mai recomanda medicilor să-și spele mâinile și în final să le clătească cu o soluție de hipoclorit de calciu. Era **prima aplicare a antisepsiei în medicină**, dar nu a fost generalizată lipsindu-i baza experimentală, iar chirurgilor fondul apercceptiv pentru înțelegerea ei. Chiar la începutul anilor 1870 Pasteur mai era ridiculizat de către medici, în Academia de Medicină din Paris, fiind numit „chimiatru”. A fost foarte bine înțeles însă de către chirurgul englez sir Joseph Lister (planșa 1.2,1) care, din 1867, introducea în serviciul său aerosolizările și pansamentele antiseptice cu soluție de acid fenic. Iată ce îi scria Lister lui Pasteur în 1874: „*Permiteți-mi să vă exprim din toată inima recunoștința mea. Prin experiențele Dv. strălucite m-ați convins că teoria despre germenii putrefacției este adevărată. Astfel mi-ați dat ideea fundamentală pe care se bazează succesul sistemului meu antiseptic. Dacă veți veni vreodată la Edinburgh, cred că veți găsi cea mai bogată răsplată văzând în spitalul nostru ce binefaceri produce pentru umanitate opera d-voastră*”.

În 1874 Alphonse Guérin, chirurg la Hôtel Dieu din Paris, comunica la Academia Franceză descoperirea pansamentului cu vată, iar Pasteur explica, pe baze microbiologice, eficiența acestei proceduri: „*Vata acționează evident, cum gândește d-l Guérin: ea nu aduce în plagă decât aer filtrat pur; poate are de asemenea, comparativ*

Introducere în microbiologie

cu pansamentul ordinar, avantajul unei ocluziuni mai reduse, de așa manieră încât ea expune plaga pe toată durata pansamentului contactului cu oxigenul pur, ceea ce ar putea desigur avea eficacitatea ei asupra vindecării”. Împreună cu J. Raulin, Pasteur a demonstrat experimental, în 1876, această ipoteză.

Experimentul prin care John Tyndall demonstra indubitabil, în 1877, că pulberile din aer transmit microorganisme (fig.1-6) a deschis calea spre **chirurgia aseptică**, concepută de către von Bergmann și aplicată în 1894 (tabelul 1-3).

(3) **Conexiuni cu morfopatologia.** Primul tratat de bacteriologie, „*Les Bactéries et leur rôle dans l'étiologie, l'anatomie et l'hystologie pathologiques des maladies infectieuses*”, a apărut în 1885 la editura pariziană Felix Alcan sub semnăturile lui Victor Cornil și Victor Babeș. Acest tratat a primit, la recomandarea lui Pasteur, marele premiu Monthion al Academiei Franceze. Victor Cornil era un cunoscut profesor francez de morfopatologie. Victor Babeș (planșa 1.2,2) era un tânăr medic român specializat în morfopatologie prin strălucite studii la Budapesta, Viena, Paris și Berlin. A făcut cercetări de bacteriologie în laboratoarele lui Pasteur (1882–1884) și ale lui Koch (1884–1886). În 1886 era numit profesor extraordinar de histopatologie la Facultatea de Medicină din Budapesta. În 1887 accepta numirea la Catedra de Morfopatologie și Bacteriologie a Facultății de Medicină din București. A fost primul profesor român de Bacteriologie.

Tabelul 1-2 O cronologie a legăturilor dintre microbiologie și biochimie

1877	M. TRAUBE	Intuiește, fără demonstrație experimentală, că fermenții sunt proteine endocelulare ale levurilor.
1898	E. BÜCHNER	Extrakte aceluare ale omogenatelor de levuri fermentează glucoza cu producere de alcool. (Premiul Nobel, 1907)
1886-1896	CHRISTIAN EIJKMAN (elev al lui R. Koch)	Descoperă vitamina B ₁ (Premiul Nobel, 1929)
1905	d'HARDEN și YOUNG	Fermentația alcoolică prin levuri sau extrakte levurice necesită prezența fosfatului, intermediarii fosforilați ai glucozei urmând a fi descoperiți de Neuberg și Robinson.
1911 ș.u.	NEUBERG	Studii asupra a numeroase fermentații microbiene.
1915	d'HARDEN și ZILVA	Cercetează la bacterii activitățile dehidrogenazice.
1920-1940	MARJORIE STEPHENSON	Studii biochimice pe bacterii non-proliferative.
1920	BANCROFT și O. H. WARBURG	Tehnicile respirometrice (Premiul Nobel, 1931)
1920	O. F. MEYERHOF	Similitudinea fermentării levurice a glucozei cu glicoliza musculară. (Premiul Nobel, 1922)
1928	O. F. MEYERHOF și LOCHMANN	Introduc noțiunea de legătură fosforică macroergică.
1929	LOCHMANN	Izolează adenozintrifosfatul (ATP) din mușchi.
1936	KNIGHT și LWOFF	Descoperă factorii de creștere bacterieni și omologia lor cu vitaminele necesare animalelor.
1937	HANS KREBS	Descoperă ciclul acizilor tricarboxilici. (Premiul Nobel, 1953)
1946	FRITZ LIPMANN	Descoperă acetil-coenzima A. (Premiul Nobel, 1955)

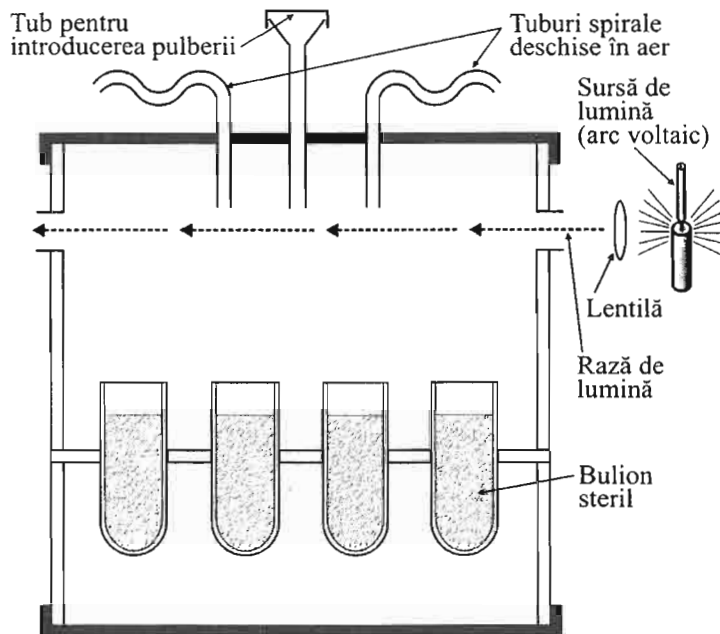


Fig. 1-6 Dispozitivul prin care Tyndall a demonstrat în 1877 că pulberile din aer vehiculează microorganisme

Tabelul 1-3 Date semnificative privind impactul microbiologiei în dezvoltarea Chirurgiei

1843	O. W. HOLMES	<i>"The Contagiousness of Puerperal Fever"</i>
1861	I. F. SEMMELWEIS	<i>"Die Aetiologie, der Begriff und die Prophylaxis des Kindbettfiebers"</i> .
1867	J. LISTER	Chirurgia antiseptică. Pansamentul antiseptic și aerosolizări cu fenol.
1874	A. GUÉRIN	<i>"Du rôle pathogénique des ferments dans les maladies chirurgicales. Nouvelle méthode de traitement des amputés"</i> . Pansamentul cu vată.
1876	L. PASTEUR și J. RAULIN	Demonstrează baza microbiologică a pansamentului cu vată.
1877	J. TYNDALL	Demonstrează că microorganismele sunt ubicuitare în aer, vehiculate fiind prin pulberi.
1878	L. PASTEUR, J. JOUBERT și CH. CHAMBERLAND	<i>"La théorie des germes et ses applications à la médecine et à la chirurgie"</i> .
1878	C. SÉDILLOT	<i>"De l'influence des découvertes de M. Pasteur sur le progrès de la chirurgie"</i> . Inventează numele de "microb", acceptat de Littré și introdus în dicționare.
1887	C. FLÜGGE	Importanța picăturilor de secreție nasofaringiană pentru transmiterea tuberculozei.
1894	E. von BERGMANN	Chirurgia aseptică.
1913	W. S. HALSTED	Mănușile chirurgicale elimină vehicularea în plagă a microorganismelor de pe mâinile chirurgilor.

(4) **Conexiuni cu patologia experimentală.** Microbiologii au făcut primele cercetări de patologie experimentală pentru că microorganismele erau primii agenți care produceau boli experimentale în condiții strict controlate. Din Patologia Experimentală a evoluat Fiziopatologia.

Introducere în microbiologie

În 1901 se înființa la Facultatea de Medicină din București Catedra de Patologie Experimentală al cărei titular fondator a fost Ioan Cantacuzino (planșa 1.2,3), savant cu o vastă cultură (filosof, biolog și medic). A lucrat în laboratoarele lui Pasteur ca elev al lui Ilya Mecinikov.

Între 1902–1911 șeful de lucrări al Profesorului Cantacuzino a fost doctorul Alexandru Slătineanu (planșa 1.2,4), care în anul 1912 devenea primul Profesor titular al Catedrei de Bacteriologie la Facultatea de Medicină din Iași. Toată viața i-a legat o caldă prietenie și strânsă colaborare (planșa 1.3,1).

(5) **Conexiuni cu epidemiologia.** Textele biblice consemnează primele concepte pragmatice de combatere și prevenire a unor boli contagioase. Părinții epidemiologiei științifice sunt primii microbiologi: *Epidemiologia s-a născut ca o epidemiologie a bolilor contagioase*. Repere istorice ale legăturilor dintre microbiologie și epidemiologie găsiți în tabelul 1-4.

Tabelul 1-4 Repere istorice ale legăturilor epidemiologiei cu Microbiologia

s. XIII a. Chr. MOISE	Concepte pragmatice despre bolile contagioase: sursă de infecție, căi de transmitere, carantinare, decontaminare. Cunoaște transmiterea prin elemente ale mediului, cea prin contact direct, inclusiv prin contact sexual.
1796 K. JENNER	Vaccinează primul copil contra variolei folosind exsudatul leziunilor veziculare de pe ugerul unei vaci (agentul activ identificat ulterior: virusul vaccinal).
1879 E. PERRONCITO	Izolează agentul holerei găinilor. Pasteur confirmă descoperirea: <i>Pasteurella hemolytica</i> .
1880 L. PASTEUR	Vaccinul viu atenuat contra holerei găinilor obținut prin repicări repetate ale agentului etiologic pe un mediu de cultură la intervale de câteva luni.
1881 L. PASTEUR	La propunerea lui Pasteur, în memoria lui Jenner, Congresul Internațional de Medicină (Londra) adoptă numele de vaccin pentru metoda de protecție contra bolilor contagioase prin injectare de microorganisme atenuate.
1881 L. PASTEUR	Prepară vaccinul anti-cărbunos atenuat prin cultivare repetată a bacteridiei cărbunoase la 41°–43°C. Celebra demonstrație de la Pouilly-le-Fort unde a vaccinat 24 de oi, șase vaci și o capră; toate animalele vaccinate au supraviețuit când, după trei luni, au fost injectate cu o tulpină virulentă de bacteridie cărbunoasă.
1883 L. PASTEUR și L. THUILLER	Descoperă <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> , cauza rujetului porcului și prepară vaccinul viu atenuat prin pasaje repetate ale bacteriei la iepuri.
1883 L. THUILLER	Moare prin holeră fulgerătoare la Cairo unde studia epidemia de holeră. R. Koch și colab. studiau aceeași epidemie.
1884 R. KOCH	Studiu epidemiologic al holerei la Calcutta. Descoperă vibrionul holeric.
1885 JAIME FERRAN	Spania, prima tentativă de vaccinare antiholerică cu vaccin viu atenuat.
1885 L. PASTEUR	Prepară vaccinul antirabic viu atenuat. Primul vaccinat, copilul Joseph Meister, supraviețuiește după mușcătură de câine turbat. Va deveni, până la pensionare, portar al Institutului Pasteur. Al doilea salvat – ciobanul de 15 ani mușcat când apăra un grup de copii contra unui câine turbat – grup statuar memorial în curtea Institutului Pasteur din Paris.

(6) **Conexiuni cu imunologia.** Bazele Imunologiei au fost puse de către Ilya Mecinikov (1845–1916), profesor de zoologie la Universitatea din Odessa. În 1882 Mecinikov a descoperit fagocitoza studiind la Messina larva transparentă a unei stele de mare înțepată cu un spin. A observat cum în jurul corpului străin se acumulau celule amoeboide. Intuiește că la animalele superioare *globulele albe* ale sângelui ar avea rol asemănător. Din 1888 și-a continuat studiile în laboratoarele lui Pasteur și a descoperit că leucocitele de iepure înglobează și digeră bacteriile care produc antraxul și rujetul porcului. A constatat că fagocitoza era mai intensă la iepurii vaccinați decât la cei nevaccinați. În alte studii a demonstrat rolul macrofagelor în distrugerea celulelor moarte sau îmbătrânite. Considera fagocitoza ca principal mecanism, chiar exclusiv, al imunității.

Tabelul 1-5 Aportul bacteriologiei la apariția și dezvoltarea imunologiei, o cronologie

1882	I. MECINIKOV	Descoperă fagocitoza, studiul de la Messina.
1888 ș.u.		Studii asupra fagocitozei în laboratoarele lui Pasteur.
1901		„ <i>l'Imunité dans les maladies infectieuses</i> ”
1902		„ <i>Leçon sur la pathologie comparée de l'inflammation</i> ”. (Premiul Nobel, 1908)
1888	HANS BÜCHNER	Puterea bactericidă naturală a serului sanguin este distrusă prin încălzire o oră la 55°C.
1889	V. BABEȘ	Substanțe imunizante circulă în sângele animalelor imunizate și pot fi transferate altor animale.
1890	E. von BEHRING și S. KITASATO	Descoperă antitoxina tetanică.
1890	E. von BEHRING	Descoperă antitoxina difterică. Bazele seroterapiei. (Premiul Nobel, 1901)
1891	PAUL EHRLICH	Bazele imunologiei experimentale. Lărgeste sfera imunității umorale: • anticorpii apar față de o mare varietate de substanțe patogene sau nu (imunologia iese din sfera bacteriologiei); • teoria <i>catenelor laterale</i> : reacția antigen-anticorp apare datorită complementarității unor “receptori” de pe molecula antigenelor și anticorpilor. (Premiul Nobel, 1908)
1893-1895	RICHARD PFEIFFER	Vibrionii holerici sunt rapid lizați de substanțe conținute în exsudatul peritoneal al cobailor vaccinați antiholerici.
1895	JULES BORDET	Numește complement sau alexină factorul seric bactericid termolabil și arată că este prezent în serul tuturor animalelor normale. Anticorpii sunt specifici și apar după vaccinare. Interacțiunea anticorpi-complement este necesară pentru bacterioliza descoperită de Pfeiffer. (Premiul Nobel, 1919)

În 1890 Emil von Behring (1854–1917) și Shibasaburo Kitasato (1852–1931), elevi ai lui Koch, descopereau antitoxina tetanică, primii anticorpi cunoscuți, și puneau bazele imunologiei umorale și seroterapiei. Până la descoperirea în 1902 a anafilaxiei de către Charles Richet și Paul Portier imunologia era un domeniu exclusiv al bacteriologilor (tabelul 1-5).

(7) **Conexiuni cu genetica moleculară.** Bazele geneticii moleculare au fost puse când bacteriile au devenit obiect de studiu al geneticienilor. Particularități structurale și funcționale ale bacteriilor au favorizat trecerea de la clasică genetică a populațiilor de organisme superioare la genetica moleculară:

Introducere în microbiologie

- Viteza cu care bacteriile generează populații enorme ale căror caractere fenotipice pot fi ușor examinate prin etalare pe medii de cultură selective.

- Simplitatea genomului, numărul limitat de caractere fenotipice ale bacteriilor permit chimiștilor să urmărească simultan și să coreleze statistic modificările structurale ale ADN cu cele ale moleculelor proteice și caracterelor fenotipice. Din 1944, când O. T. Avery și colab. au reprodus *in vitro* experimentul de transformare a pneumococilor descris de F. Griffith, dezvoltarea biologiei moleculare a fost explozivă și cu impact enorm asupra microbiologiei medicale, a descifrării mecanismelor oncogenezei ori apariției de tehnologii greu imaginate în trecut (tabelul 1-6).

Microbiologia este deci o știință de vârf purtătoare a progresului în numeroase

Tabelul 1-6 Evenimente care au marcat apariția și dezvoltarea geneticii moleculare

1912 F. P. ROUS	Descoperirea virusurilor oncogene. (Premiul Nobel, 1966)
1928 F. GRIFFITH	Descoperă transformarea pneumococilor <i>in vivo</i> : șoarecii injectați cu amestec de pneumococi capsulați serovar 1 omorâți prin căldură și pneumococi vii ai variantei necapsulate din serovarul 2 mureau iar în hemoculturile șoarecilor morți izola pneumococi capsulați serovar 1.
1937 PIEKARSKI	Evidențiază nucleoidul bacterian.
1941- G. W. BEADLE, E. L. TATUM și 1946 J. LEDERBERG	Izolează mutanți biochimici ai <i>Neurospora crassa</i> și afirmă că fiecare funcție pierdută este controlată de o anume genă. Descoperă recombinația genetică la bacterii. (Premiul Nobel, 1958)
1943 S. LURIA și M. DELBRÜCK	Demonstrează caracterul spontan al mutațiilor bacteriene: testul fluctuațiilor. (Premiul Nobel, 1969)
1944 O. T. AVERY, C. MAC LEOD și M. MC CARTHY	Reproduc <i>in vitro</i> experimentul lui Griffith și arată că agentul transformant este ADN.
1950 A. LWOFF, L. SIMIONOVITCH și N. KJELGAARD	Descoperă inducția bacteriilor lizogene și concep noțiunea de profag.
1952 VOGEL și B. D. DAVIS	Introduc noțiunea de represie enzimatică.
1952 N. D. ZINDER și J. LEDERBERG	Descoperă transducția: transferul de informație genetică prin bacteriofagi temperați.
1952 J. LEDERBERG	Descoperă plasmidele.
1952 J. LEDERBERG și E. WOLLMAN	Localizează profagul în cromosomul de <i>Escherichia coli</i> .
1953 W. HAYES	Descoperă mutantele Hfr.
1953 J. WATSON și F. CRICK	Stabilesc structura în dublu helix a ADN și semnificațiile sale în transferul informației genetice. (Premiul Nobel, 1962)

Tabelul 1-6 (continuare)

1954 P. C. ZAMECNIK și E. B. KELLER	Pe extracte aceluare, demonstrează că ribosomii sunt sediul sintezei proteice.
1961 F. JACOB și E. WOLLMAN	Stabilesc noțiunea de episom.
1961 F. CRICK ș. a.	Descoperă codul genetic.
1961 A. LWOFF, J. MONOD și F. JACOB	Conceptul de operon și controlul genetic al sintezei enzimelor. (Premiul Nobel, 1965)
1967- W. ARBER, D. NATHANS și 1970 H. O. SMITH	Descoperă enzimele de restricție și utilizarea acestora în genetica moleculară. (Premiul Nobel, 1978)
1967 R. DULBECCO, H. M. TEMIN și ș. u. D. BALTIMORE	Descoperiri privind interacțiunea dintre virusurile tumorale și materialul genetic al celulei. (Premiul Nobel, 1975)
1976 M. BISHOP și H. WERMUS	Descoperirea originii celulare a oncogenelor retrovirale. (Premiul Nobel, 1989)
1972 P. BERG	Prima disecție și reconstrucție de genom: hibridul SV 40 – fag λ drgal.
1983 KARY B. MULLIS	Concepe o cale de amplificare exponențială a secvențelor ADN (PCR). (Premiul Nobel pentru chimie, 1993)

activități umane, inclusiv medicina. Cât de valabil este aceasta în medicină o dovedește faptul că, într-o perioadă de 90 de ani după instituirea în 1905 a premiilor Nobel, 46 dintre cei 162 de laureați pentru medicină au obținut distincția prin **cercetări care au avut ca obiect sau instrument microorganisme.**

1.5. LOCUL LUI BABEȘ ȘI CANTACUZINO ÎN MEDICINA ROMÂNEASCĂ

„Un popor se definește nu atât prin oamenii săi mari, cât mai ales prin felul în care acel popor își recunoaște și își cinstește oamenii săi mari.”

FRIEDERICH NIETZSCHE

Prin charismă, vastă cultură și totală dăruire în tot ce făceau, Victor Babeș și Ioan Cantacuzino au atras în jurul lor numeroși studenți, tineri medici și biologi. Au iubit tineretul și au fost iubiți de tineri. Așa au creat două școli din care s-au ridicat multe, foarte multe, personalități ale medicinei românești. Unii dintre cei care au trecut prin laboratoarele lor au condus mulți ani după aceea destinele microbiologiei, igienei și a variate specialități clinice, alții, uneori aceiași, au fost oameni de artă, scriitori, pictori (tabelele 1-7 și 1-8).

Iată ce răspundea Victor Babeș acelor tineri entuziaști din *Societatea studenților în medicină* care, în 1914, au organizat banchetul jubiliar pentru cei 60 ani de viață ai maestrului lor: „*Manifestarea Voastră înflăcărată și plecată din sufletele voastre tinere, sincere, pe mine mă înviază, îmi ridică moralul, greu încercat în ultimele timpuri; voi îmi dați o nouă forță de muncă și cel mai frumos sprijin moral, pe care-l poate aștepta sufletul meu amărât.*”

Tabel 1-7 Personalități medicale din școala profesorului Victor Babeș.

Emil Pușcariu (1859–1928)	Profesor de Histologie la Fac. de Medicină din Iași (1893–1928). Director al Institutului Antirabic din Iași (1893–1928?) Secretar general în Ministerul Cultelor (1899–1901) Profesor suplinitor de Bacteriologie (1907–1911)
George Bogdan (1859–1930)	Profesor de Medicină Legală (1891–1930) și Decan (1891–1930) al Fac. de Medicină din Iași Magnificus Rector al Universității din Iași
Vasile Sion ^{1), 2)} (1861–1921)	Profesor de Igienă la Fac. de Medicină din Iași (1900–1903) și București (din 1904) Director general al Serviciului Sanitar
Gheorghe Marinescu (1863–1938)	Profesor de Clinica boalelor nervoase la Fac. de Medicină din București (1897–1938?)
Valeriu Roșculeț (1866–?)	Profesor suplinitor de Histologie (1899–1901) și de Bacteriologie (1901–1906) la Fac. de Medicină din Iași
Gheorghe Proca (1867–1943)	Profesor de Igienă la Fac. de Medicină din Iași (1904–1908) Profesor de Patologie Generală la Fac. de Medicină din București (din 1909) Suplinește Catedra de Anatomie Patologică împreună cu Aurel Babeș (1926–1930) Poet
Mihai Manicature (1867–1954)	Profesor de Clinică Infantilă la Fac. de Medicină din Iași (1901–1920) și București (1920–1937)
Paul Riegler (1867–1937)	Profesor de Anatomie Comparată și Bacteriologie (din 1900) și Decan (1926–1930) la Fac. de Medicină Veterinară din București Director al Institutului Pasteur din București
Constantin Bacaloglu (1871–1942)	Profesor de Clinică Medicală la Fac. de Medicină din Iași (1913–1930) și din București (1930–1942) unde suplinește Catedra de Anatomie Patologică (1930–1931)
Francisc Reiner ¹⁾ (1874–1944)	Profesor de Anatomie și Embriologie la Fac. de Medicină din Iași (1913–1920) și București (1920–1940)
Ștefan Gh Nicolau (1874–1970)	Profesor de Dermato-Venerologie la Fac. de Medicină din Cluj (1919–1920) și București (1920–1938)
Theodor Mironescu (1877–1954)	Profesor de Boli Infecțioase (1919–1941) la Fac. de Medicină din București
Constantin Levaditi (1879–1953)	Preparator al lui Victor Babeș (1897–1898) Continuă studiile la Paris; naturalizat cetățean francez (1908) Profesor la Institutul Pasteur din Paris Pionier al Virusologiei; importante studii asupra sifilisului. Conferințe în numeroase țări 1907, 1912 i se refuză post de profesor în România. Profesor de Patologie generală și experimentală la Fac. de Medicină din Cluj (1920); contract reziliat după 3 luni de autoritățile centrale.
Titu Vasiliu (1885–1961)	Profesor de Anatomie Patologică la Fac. de Medicină din Cluj (1920–1947) Profesor la Institutul de perfecționare a medicilor din București (1952–1953)
Aurel Babeș (1886–1962)	Conferențiar de Anatomie Patologică la Fac. de Medicină din București
Emil Crăciun (1896–?)	Profesor de Anatomie Patologică la Fac. de Medicină din București (1936–1966)

¹⁾ În 1908 îl găsim fotografiat în grupul prietenilor Profesorului Ioan Cantacuzino și al personalului laboratorului de Medicină experimentală pe care acesta îl conducea.

²⁾ Colaborator al Profesorului Cantacuzino la întocmirea Legii sanitare din 1910.

În 1942 marele anatomist care a fost profesorul Grigore T Popa scria: „...mai ales m-am apropiat de acel strălucit model de om complet, clocotitor de influență bine-făcătoare, din a cărui școală mă mândresc că fac parte, fără să fi fost o singură zi elevul său de bancă. Acel om de care nu se va despărți gândirea mea niciodată, a fost profesorul Cantacuzino. O școală nu se face numai cu bănci și ziduri; ea nu se face numai cu catalog, cu ore de curs și cu examene. Ba chiar, aproape paradoxal, ea nu se face nici cu știință de carte (dacă-i numai atât). Firește, trebuie din toate acestea câte ceva și mai ales trebuie cunoștințe cât mai multe; dar fără elan, fără suflet, fără apropiere umană nu se poate face școală. Un adevărat maestru este un instigator, un stârnitor de energii potențiale, un incendiator de spirite.”

1.6. TAXONOMIA MICROORGANISMELOR

Diversitatea tot mai crescută a microorganismelor utile sau dăunătoare impune identificarea lor cât mai precisă în scopul separării celor dorite de cele nedorite ori al diagnosticului etiologic și terapiei etiotrope a bolilor infecțioase.

La lucrurile și ființele înconjurătoare ne referim cu un nume, nu le descriem cu ansamblul caracterelor pe care le au. Pentru aceasta omul a observat, a comparat lucrurile, ființele sau fenomenele, le-a reunit pe cele asemănătoare în grupe (unități) pe care le-a aranjat într-o anumită ordine (clasificat) și le-a marcat (numit). În raport cu aceste sisteme de unități marcate putem identifica, prin comparație, un obiect, un fenomen sau o ființă nou observată. Aceasta este esența științei pe care o numim taxonomie și care înmănușează trei domenii distincte, dar întrepătrunse, ale cunoașterii: **clasificarea**, **numirea** și **identificarea**. Metaforic, taxonomia a fost comparată cu un cocktail pe care consumatorul îl savurează, dar numai **cei inițiați** îi recunosc ingredientele.

(1) **Clasificarea** obiectelor este făcută după însușiri aparente. *Este o clasificare în chei.* O cheie reunește obiectele care au în comun caractere ușor de recunoscut. În lumea vie o asemenea clasificare expune la erori din cauza evoluției divergente sau convergente a unor caractere (e.g., lilieciul zboară, dar nu sunt păsări etc.). De aceea unitatea de **clasificare a viețuitoarelor** trebuie să corespundă unei grupări naturale particulare. *Un taxon biologic reunește indivizi asemănători datorită descendenței dintr-un strămoș comun, deci posesori ai unei informații genetice comune. Așadar, clasificarea organismelor vii este filogenetică.*

Specia, taxonul de bază al lumii vii, este o comunitate reproductivă formată din populații care habitează un anumit areal și ai cărei indivizi se încrucișează liber în natură, cu orice individ de sex opus, dând descendenți viabili și fertili. Speciile apărute prin evoluție divergentă dintr-un strămoș comun sunt reunite într-un **gen**; genurile cu origine comună în **familii**; familiile în **ordine**; ordinele în **clase**; clasele în **diviziuni**; diviziunile în **regnuri**.

Spre deosebire de clasificarea organismelor eucariote, clasificarea celor procariote întâmpină dificultăți, dintre care reținem:

- Numărul redus de caractere morfologice;
- Insuficiența amprentelor fosile, care reflectă filogenia;
- Nu poate fi studiat un individ, ci o **populație**, pe care o numim **tulpină**;
- Apariția frecventă în populațiile bacteriene a unor variante genetice, care, sub presiuni selective ale mediului, generează **clone** diferite prin unele caractere, fără ca apartenența la aceeași specie să fie alterată;
- Înmulțirea exclusiv vegetativă face dificil de recunoscut discontinuitățile în evoluția divergentă a unei specii procariote. Ca atare, **specia bacteriană este definită ca un grup de tulpini cu multe caractere comune prin care diferă semnificativ de alte tulpini**. În stadiul actual specia bacteriană este formată dintr-un grup de tulpini alese de taxonomist.

Tabelul 1-8 Câteva personalități, colaboratori și elevi din școala Profesorului Ioan Cantacuzino

Alexandru Slătineanu (1873–1939)	Inspector sanitar pentru epidemii din 1907 Fondatorul Catedrei de Bacteriologie la Fac. de Medicină din Iași (1912–1938) Magnificus Rector Universitatea din Iași (1923–1926) Director al Serviciului Sanitar (1918–1920) Director al Institutului de Igienă din Iași (1930–1938) Secretar general Ministerul Sănătății Publice (1931–1932) Director Societatea pentru profilaxia tuberculozei Merite deosebite în combaterea tuberculozei
Ștefan Irimescu (1873–1956)	Conferențiar (1920–1923), profesor titular de Medicină
Mihail Butoianu (1876–1935)	Operatorie Fac. de Medicină din Iași (1924–1927); Inspector sanitar general al Armatei (1928) General de divizie (1930–1935)
Constantin Gorescu (1879–1935)	Organizează primele Laboratoare ale Ministerului Sănătății, în Craiova și Constanța
Alexandru Ciucă (1880–1972)	Șef de secție Institutul Cantacuzino Profesor de Patologie Contagioasă Fac. de Medicină Veterinară din București (1921–1950)
Mihail Botez (1881–1960)	Fondatorul Catedrei de Bacteriologie la Fac. de Medicină din Cluj (1921–1923) Profesor de Patologie Generală și Experimentală la aceeași facultate (1923–1941) Decan al Fac. de Medicină din Cluj (1927–1928)
Constantin Ionescu Mihăiești (1883–1962)	Profesor de Patologie Generală și Experimentală Fac. de Medicină din Iași (1925–1930) Profesor la Fac. de Medicină din București de Patologie Experimentală (1930–1934), de Bacteriologie (din 1934) Director al Institutului „I. Cantacuzino” din București
Mihai Ciucă (1883–1969)	Profesor de Igienă la Fac. de Medicină din Iași (1922–1934) Delegat al României în Organizația de Igienă a Societății Națiunilor (1929–1934) Profesor de Bacteriologie Fac. de Medicină din București (din 1934)
Vitold Baroni (1883–?)	Directorul Laboratorului de Igienă din Galați și Membru în Comisia dunăreană și Organizația de Igienă a Societății Națiunilor (1910–1920) Profesor de Bacteriologie Fac. de Medicină din Cluj (1925–1947)
Nicolae Gh Lupu (1884–1966)	Suplinește Catedra de Anatomie Patologică din București (1931–1936) Conferențiar (1931–1935) și Profesor de Clinică Medicală Fac. de Medicină din București (din 1936) Șef de secție în Institutul Cantacuzino din București
Max Marbe (1884–?)	Medic chirurg la Ploiești
Daniel Danielopolu (1884–1955)	Profesor de Clinică Medicală Fac. de Medicină din București (1920–1955) Director al Institutului Clinico-Medical din Spitalul Filantropia devenit Institutul de Fiziologie al Academiei Române

Tabelul 1-8 (continuare)

Ion Nicolau (1885–1963)	Şef de secție la Institutul Cantacuzino București Profesor de Patologie Generală și Medicină Experimentală (1936–1939) și de Clinică Infantilă (1939–1952) la Fac. de Medicină din Iași Profesor de Pediatrie la Fac. de Medicină din București (din 1952)
Gheorghe Zotta (1886–1942)	Şef de secție Institutul Cantacuzino Profesor de Parazitologie la Fac. de Medicină din București
Dumitru Combiescu (1887–1961)	Şef de secție în Institutul Cantacuzino din București Profesor de Patologie Generală la Fac. de Medicină din București (din 1937) și de Epidemiologie
Alexandru Țupa (1886–1955)	Profesor de Histologie și Embriologie la Fac. de Medicină din Iași (1930–1955)
Ion Bălțeanu (1887–1968)	Conferențiar (1927–1929) și profesor de Epidemiologie și Clinica boalelor infecțioase (1930–1942) la Fac. de Medicină din Iași Profesor de Clinica boalelor infecțioase la Fac. de Medicină din București (din 1942)
Petru Condrea (1888–1967)	Conferențiar de Patologie Comparată Fac. de Medicină din București (1929–1945) Şef de secție Institutul Cantacuzino București (1932–1945), Iași (1946–1958) Profesor de Microbiologie Fac. de Medicină din Iași (1946–1958)
Marius Nasta (1890–1962)	Şef de secție în Institutul Cantacuzino din București (1927–1945) Profesor de Ftiziologie la Fac. de Medicină din București (1945–1962)
Grigore T Popa (1892–1948)	Profesor de Anatomie (1928–1942) și Decan (1938–1940) la Fac. de Medicină din Iași Profesor de Anatomie (1942–1947) al Fac. de Medicină din București A descoperit sistemul venos port al hipofizei A editat, împreună cu M. Sadoveanu, M. Codreanu și G. Topârceanu, revista <i>Însemnări Ieșene</i> (1936–1942)
Gheorghe Magheru (1892–1952)	Şef de secție în Institutul Cantacuzino din București Poet
Dumitru Ghiață (1888–1972)	Pictor, fost laborant al Profesorului Cantacuzino. Profesorul i-a descoperit talentul și i-a încurajat studiile în țară și la Paris. A excelat în peisagii și naturi moarte.

Pleiada de „*mici medici mari*” care au ilustrat strălucit medicina românească prin competență profesională și înaltă cultură: directori ai laboratoarelor de igienă, directori de spitale, șefi de laboratoare clinice, șefi de secții medicale sau chirurgicale; mulți iubitori de artă sau erudiți istorici ai medicinei.

Clasificarea bacteriilor cere cunoștințe obținute prin tehnici speciale de observare a morfologiei și structurii (☞ Capitolul 2), fiziologiei și activității biochimice (☞ Capitolul 3), biologiei moleculare și geneticii (☞ Capitolul 5), structurii antigenice etc.

Caracterele folosite pentru clasificare trebuie să fie genetic stabile. Valoarea unui criteriu taxonomic variază cu grupul biologic care trebuie comparat. Un caracter prezent sau absent la toți membrii unui grup nu poate fi folosit pentru a diferenția membrii săi, dar poate **defini grupul** (e. g., toți stafilococii au catalază, toți streptococii nu au catalază). Caracterele instabile genetic nu sunt criterii taxonomice (e.g., caracterele codificate plasmidic: plasmidele pot fi transmise interspecific sau pot fi pierdute, ☞ Capitolele 2 și 5).

Perspectiva spre clasificarea naturală a organismelor procariote este deschisă prin tehnicile moderne de studiu: (1) Studiul conținutului relativ de guanină + citozină (G+C) al ADN purificat. Cu cât conținutul G+C a două bacterii este mai apropiat, cu atât acestea sunt mai înrudite. (2) Omologia secvențelor nucleotidice ale ADN cantificată prin formarea moleculelor hibride pornind de la două catene ADN cu origini diferite (☞ Capitolul 5). (3) Studiul secvențelor oligonucleotidice ale ARN ribosomal. (4) Studiul structurii primare a enzimelor izofuncționale sau a citocromului c. (5) Studiul imunologic al proteinelor bacteriene omoloage (catalaze, aldolaze etc.).

(2) **Numirea științifică a microorganismelor** este făcută după caracterele lor observate și în acord cu norme internaționale. Conform acestor norme specia este denumită, după sistemul binominal al lui Linné, prin două cuvinte latinizate, care caracterizează cât mai sintetic microorganismul în cauză.

Primul cuvânt, scris cu literă inițială majusculă, indică genul și este un substantiv sau adjectiv la singular. El precizează particularități morfologice (*Staphylococcus* = s. gr. *staphyle*, ciorchine de strugure; s. gr. *coccus*, boabă; coci așezați în ciorchini), habitatul natural al organismului (*Enterococcus* = s. gr. *enteron*, intestin; s. gr. *coccus*, boabă; coci care trăiesc în intestin); sau **numele unui savant cu merite deosebite** în descoperirea microorganismului (*Escherichia* = Theodor Escherich, bacteriolog german). Latinizarea numelor de gen este făcută prin sufixele: -um, -us, -as, -a respectiv *Clostridium*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Treponema* etc.

Al doilea cuvânt este un epitet specific descriptiv pentru specie și scris cu literă mică. El poate fi un adjectiv acordat cu numele genului (*Staphylococcus aureus*, o specie de *Staphylococcus* care produce pigment auriu), un substantiv la genitiv (*Mycobacterium chelonae*, o specie de *Mycobacterium* găzduită de broaște țestoase), un nume propriu la genitiv (*Rickettsia prowazekii*, o specie de *Rickettsia* numită în memoria bacteriologului german Stanislas von Prowazek răpus de tifosul exantematic pe care îl studia).

Când într-un text numele genului se repetă, poate fi prescurtat prin inițială, dacă aceasta nu creează confuzii (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. capitis* ș. a.).

Identificarea unei bacterii numai până la nivel de gen este menționată prin numele genului urmat de abrevierea spp., o specie a genului.

Sufixe diferențiate latinizează numele familiilor (-aceae, *Enterobacteriaceae*), ordinelor (-ales, *Spirochaetales*) sau clasele (-es, *Mollicutes*).

Observați că numele științifice ale taxonilor biologici sunt scrise cu caractere italice, iar numele taxonilor de rang superior, începând cu genul, sunt scrise cu literă inițială majusculă. În activitatea curentă, nu în documente oficiale (e.g., buletine de analiză microbiologică) ori texte academice, putem folosi denumiri comune, acceptate prin consens: meningococ = *Neisseria meningitidis*, bacilul lui Koch = *Mycobacterium tuberculosis*, specie descoperită de Robert Koch.

(3) **Identificarea** este, în esență, utilizarea practică a schemei de clasificare.

Cheile dihotomice de identificare nu sunt „sisteme de clasificare”, ci instrumente de analiză antitetică: pun întrebări la care răspunsul este DA sau NU. Aceasta ușurează mult compararea caracterelor unei tulpini necunoscute cu cele ale unei specii tip conservată într-o colecție. Cheile dihotomice sunt utile la identificarea preliminară a unei bacterii, când examinăm caractere foarte stabile genetic la grupe mari de bacterii, cum ar fi caractere microscopice, producerea de catalază, de oxidază etc. (e.g., un coc gram-pozitiv catalazo-pozitiv poate fi *Staphylococcus*, *Micrococcus*, dar niciodată *Streptococcus*). Identificarea speciilor prin chei dihotomice expune însă la erori: un singur caracter inconstant prezent sau o eroare analitică denaturează toate etapele ulterioare ale algoritmului de identificare.

Taxonomia numerică este metoda de identificare cel mai larg folosită în prezent. Schemele de clasificare numerică se bazează pe un mare număr de caractere taxonomice (în jur de 100). Computerul grupează tulpinile pe baza frecvenței cu care exprimă caracterele fenotipice. Nivelul uzual prestabilit de similaritate globală este de cel puțin 80%. Cu aceste date este construită o matrice de frecvență ca termen de comparație pentru identificarea tulpinilor necunoscute. Deci, în locul speciei tip, reale, taxonomia numerică oferă ca termen de comparație o abstracție numerică, matricea de frecvență. Sinonime sugestive pentru taxonomia numerică sunt: taxonomia computerizată, taxometrică sau fenetică.

Grupări infraspecifice (subtiparea) și aplicațiile lor. Frecvent, în cadrul speciilor microbiene sunt delimitate grupări infraspecifice (variante) definite antigenic (serovar), prin activitatea biochimică (biovar), prin sensibilitatea la anumiți bacteriofagi (lizovar) ș.a.m.d. Ocazional folosim și denumirea formată prin sufixul –tip: serotip, biotip, lizotip etc. Grupările infraspecifice pot fi utili marcheri epidemiologici prin care urmărim filiația cazurilor într-o epidemie.

Valoarea unui sistem de subtipare este măsurată prin capacitatea discriminatorie și fiabilitate.

Discriminarea. Un marcher are putere de discriminare cu atât mai mare cu cât permite repartizarea microorganismului studiat într-un mare număr de tipuri dintre care nici unul nu este foarte răspândit. Capacitatea discriminatorie redusă a unui marcher epidemiologic expune la rezultate fals pozitive.

Fiabilitatea depinde de stabilitatea genetică a caracterului marcher. Lipsa de fiabilitate are efect opus capacității discriminatorii reduse: rezultate fals negative. Probabil nici unul din sistemele clasice de subtipare nu este total fiabil.

Biologia moleculară ne oferă acum sisteme de subtipare cu excelentă capacitate discriminatorie și mare fiabilitate: e.g., analiza profilului plasmidic, digestia endonucleazică de restricție a ADN cromosomal sau plasmidic, electroforeza în câmp pulsatil și electroforeza enzimatică multiloculară, ribotipia și analiza prin amplificare genică a fragmentelor rezultate după digestia ADN cu endonucleaze de restricție, amplificarea ADN polimorf, secvențierea ADN etc. (☞ Capitolul 5).

1.7. OBIECTIVELE INSTRUCȚIONALE ALE MICROBIOLOGIEI MEDICALE

Definitoriu, microorganismele pot fi văzute numai prin microscop, dar microorganismele sunt ubicuitare în ambient, pe învelișurile și în cavitățile noastre, în țesuturi, umorile sau celulele bolnavilor, pe lenjerie, haine, așternut; pe instrumentarul și dotările folosite în spitale, ambulatorii etc. Medicul nu poate purta continuu un microscop, așa cum are un stetoscop. De aceea *principalul obiectiv instrucțional al Microbiologiei Medicale*

Introducere în microbiologie

este de a învăța viitorul medic să vadă microorganismele cu „ochii minții” și să raționeze microbiologic:

- Să știe unde și ce fel de microorganisme sunt prezente (pe și în propriul corp; pe și în corpul pacienților, chiar dacă aceștia nu suferă de o boală infecțioasă; pe și în elemente ale ambientului).

- Care sunt căile prin care aceste microorganisme ajung dintr-un loc în altul și ce urmări poate avea asemenea contaminare.

- Să cunoască riscurile contaminării microbiene în practica medicală și chirurgicală (condițiile de risc ale contaminărilor).

- Să înțeleagă rolul microorganismelor în condiționarea stării de sănătate și boală.

- Să înțeleagă etiopatogenia bolilor infecțioase.

- Să-și însușească deprinderi pentru:

- prevenirea contaminării microbiene în raport cu diferitele condiții de risc întâlnite în practica medicală și chirurgicală;

- recoltarea corectă a produselor patologice în vederea diagnosticului etiologic și să poată aprecia semnificația clinică a unui microorganism observat sau izolat dintr-un produs patologic în condiții clinico-epidemiologice definite;

- inițierea și monitorizarea corectă a terapiei antimicrobiene.

ANATOMIA FUNCȚIONALĂ A BACTERIILOR 2

DUMITRU T. BUIUC, MARIA DAN

„Functions must be understood in term of structures,
structures must be understood in term of chemistry.”

GEORGE EMIL PALADE

Creșterea și înmulțirea bacteriilor sau supraviețuirea lor în variate condiții ambientale sunt controlate de structuri celulare bine determinate. Este ceea ce vom numi în acest capitol *semnificația biologică* a structurilor bacteriene.

Structuri genetic stabile și ușor de observat prin metode uzuale sunt importante pentru clasificarea și identificarea bacteriilor. Aceasta ar fi *semnificația taxonomică* a structurilor bacteriene.

Organismul nostru poate fi mediu de viață pentru bacteriile înzestrate cu structuri care le permit să ne acapareze învelișurile, țesuturile, celulele și umorile. Deci anumite structuri bacteriene au *semnificații patogene* (☞ Subcapitolul 6.3).

Medicul trebuie să cunoască diferențele structurale și funcționale dintre bacteriile agresoare (celule procariote) și celulele noastre (celule eucariote) nu numai pentru a descifra mecanismul agresiunii, ci și pentru că anumite *structuri bacteriene pot fi ținte selective ale efectorilor imunitari sau ale medicamentelor antibacteriene* (☞ Subcapitolul 7.3.).

Celula bacteriană este un săculeț citoplasmic, *protoplastul*, delimitat de membrana citoplasmatică și cuprins în diferite structuri de înveliș. Citoplasma cuprinde nucleoplasma, dispusă central, ribosomi și, la unele specii bacteriene, incluziuni. O serie de bacterii au structuri filamentoase (flageli, pili) sau endospori.

Dimensiunile bacteriilor și ale structurilor le măsurăm în μm – citește micrometri (10^{-6}m) și respectiv în nm – citește nanometri (10^{-9}m). Majoritatea bacteriilor au diametru mediu de 1-2 μm . Numai unele bacterii particulare măsoară 300 nm (chlamidiile) sau chiar 125-250 nm (formele cocoide ale molicutelor). Comparativ cu un macrofag, o bacterie de dimensiuni medii are suprafața de 360 ori, iar volumul de 5000 ori mai mici. De aici decurg avantajele selective pentru bacterii în raport cu celulele eucariote atât în mediul extern, cât și în organismele superioare cu care se pot asocia: schimburi mai intense cu ambientul, rată metabolică mai mare, timp de generație mai scurt, la care se adaugă varietatea mai mare a nutrienților și surselor de energie pe care le pot utiliza (☞ Capitolul 3).

2.1. PROTOPLASTUL BACTERIAN

Citoplasma. La microscopul optic, pe preparate colorate uzual vedem numai citoplasma intens bazofilă și, uneori, incluziuni citoplasmice. Microscopia electronică pe

Anatomia funcțională a bacteriilor

secțiuni ultrafine oferă detalii structurale (planșa 2.1,1). Formată în proporție de 80% din apă, conține într-un sistem coloidal proteine, carbohidrați, lipide, metaboliți cu moleculă mică și săruri anorganice. Aflată permanent în stare de gel, este lipsită de curenții generați la celulele eucariote prin alternanța stării de gel și sol. Aceasta îi permite, în absența membranelor intracelulare, să mențină poziția structurilor interne.

Nucleoplasma. Este un echivalent al nucleului celular. Constituită din ADN, are afinitate pentru coloranți bazici, dar este mascată de bazofilia intensă a citoplasmei bogată în ARN. În *microscopia optică* este observată, numai după hidroliza ARN, ca un corpuscul cromatic oval, alungit în halteră sau V, în funcție de stadiul diviziunii (planșa 2.1,2). Pe electronomicrografii ale secțiunilor ultrafine nucleoplasma apare ca un ghem sau scul de fibre cu diametrul de 2-6 nm. Lipsesc membrana nucleară și nucleolul (planșa 2.1,2). Eliberată după liza menajată a bacteriilor marcate cu timidină tritiată se derulează și, prinsă pe un film proteic, dă autoradiografii pe care apare formată dintr-un cromosom unic, o moleculă de ADN circulară, dublu-catenară, lungă de 1000-2000 μm (planșa 2.1,3). *In situ* cromosomul bacterian este helicat și superhelicat în jurul unui miez ARN care îl menține în formă compactă. Sarcinile electronegative ale ADN sunt neutralizate prin poliamine, ioni de Mg^{2+} și proteine asemănătoare histonelor. Funcțiile nucleoplasmei sunt prezentate în Capitolul 5.

Ribosomii bacterieni au diametrul de 10-20 nm și constanta de sedimentare numai 70 S, în contrast cu cea 80 S a celulelor eucariote. Sunt formați dintr-o unitate 30 S și una 50 S, care se reunesc într-un complex stabilizat prin ioni de Mg^{2+} și poliamine. Sunt foarte numeroși și au o cinetică rapidă: o bacterie cu dimensiuni medii formează cca 500 ribosomi/minut până la un total de 20.000 ribosomi/celulă. Acestea subliniază intensitatea metabolismului bacterian. Pe electronomicrografii îi observăm dispuși ca polisomi în lungul moleculelor ARNm pe care le citesc și traduc eficient și rapid (planșa 2.1,4).

Incluziunile citoplasmatică au caracter de specie. Pot fi observate și la microscopul optic, ceea ce este important pentru identificarea preliminară a unei bacterii – sunt caractere taxonomice primare (planșa 2.2,1). Funcțional, sunt rezerve de nutrienți care se depun, când bacteria dispune de aceștia, în condiții de stres fizico-chimic sau nutrițional (e.g., modificări de pH, limitarea altor nutrienți). Sunt constituite din:

- Polimetafosfat, ca la *Corynebacterium* spp., mai ales la *C. diphtheriae*. Se colorează metacromatic (e.g., în roșu cu albastru de metilen policrom) și sunt numite corpusculi Babeș-Ernst sau incluziuni de volutină.

- Polizaharide: amidon (e.g., *Clostridium*, *Neisseria*) sau glicogen (e.g., *Bacillus*).

- Lipide, în special polimeri de β -hidroxiacizi grași cu lanț scurt (e.g., la specii de *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*).

Membrana citoplasmatică are structura și funcțiile unei membrane biologice, dar și particularități proprii bacteriilor:

- Este lipsită de steroli pentru că bacteriile nu îi sintetizează. Excepție fac molicutele, bacterii fără perete, care încorporează colesterol preformat de organisme eucariote.

- Creșterea bacteriilor este posibilă numai când cel puțin 50% din membrana citoplasmatică este semifluidă. De aceea bacteriile care cultivă la temperaturi joase sintetizează și încorporează în membrană cantități mari de acizi grași nesaturați.

- Este unicul sediu al citocromilor, enzimelor și componentelor lanțului respirator implicate în transportul de electroni și fosforilarea oxidativă. În celulele eucariote mitocondriile sunt analogul funcțional al membranei citoplasmice bacteriene, aceste organite fiind descendenții unei bacterii devenită endosimbiontă.

– Excretă enzimele hidrolitice: în lipsa lizosomilor, la celulele procariote digestia este extracelulară. Membrana citoplasmică a bacteriilor conține secvențe de cca. 20 aminoacizi, *secvențe semnal*, care leagă precoce polisomii pentru a asigura apoi excreția proenzimelor hidrolitice, care devin active extracelular după elivarea secvențelor semnal.

– Transportul transmembrantar, foarte eficient la bacterii, este asigurat de fosfotransferaza membranară, care, fosforilată în citoplasmă, leagă monozaharide pe suprafața externă a membranei și le transportă în citoplasmă unde le eliberează ca zahăr fosforilat gata să fie antrenat în reacțiile metabolice.

– Are funcții particulare de biosinteză: (i) Sinteza fosfolipidelor. (ii) Autoreplicarea genomului bacterian, fiecare replicon fiind permanent în contact cu un situs membranar de replicare. (iii) Sinteza peretelui bacterian. Invaginații anfractuozale ale membranei citoplasmice, *mezosomii*, îi măresc suprafața funcțională. Enzimele implicate în autoreplicarea nucleoplasmei se concentrează în mezosomi laterali, iar cele implicate în sinteza peretelui bacterian în mezosomi septali (planșa 2.1,1).

Membrana citoplasmică poartă receptori pentru semnale din mediul extern: atracțanți, repelenți și sistemul molecular de integrare a acestor informații, feromoni (Capitolul 5).

2.2. PERETELE BACTERIAN

Peretele învelește protoplastul bacterian. Este format dintr-o structură de bază și structuri speciale, care diferențiază grupe mari de bacterii.

2.2.1. Structura de bază

Peptidoglicanul este structura de bază particulară *eubacteriilor*, mare grup care cuprinde și bacteriile patogene, obiectul nostru de studiu. Lipsește din peretele arheobacteriilor, al mollicutelor și al oricărei celule eucariote.

Arheobacteriile sunt organisme primitive adaptate la condiții de viață extreme (temperatură, salinitate) niciodată întâlnite în corpul nostru, ca atare sunt *bacterii nepatogene*. Similitudini genomice și de sinteză proteică ar atesta filiația organismelor eucariote din arheobacterii.

O clasă a eubacteriilor, *Mollicutes*, este complet lipsită de perete bacterian.

Peptidoglicanul este un heteromacropolimer de dizaharide aminate, N-acetilglucozamină și acid N-acetil muramic. Înlănțuite alternativ în structuri lineare, *lanțuri de glican*, solidarizate între ele prin subunități și punți peptidice (fig.2-1). Peptidoglicanul cuprinde protoplastul bacterian ca o plasă rigidă și rezistentă. Poate fi comparat cu un corset sau citoschelet extern. Sinteza peptidoglicanului este controlată de enzime bifuncționale de pe fața externă a membranei citoplasmice. Aceste enzime funcționează ca *transglicozilaze*, care leagă între ele cele două aminozaaharuri, și ca *transpeptidaze*, care catalizează formarea subunităților și punților peptidice, structuri în care dipeptidul D-alanină-D-alanină este esențial. Prin lanțurile de glican în formare, peretele bacterian este ancorat la membrana citoplasmică. Enzimele care controlează sinteza peptidoglicanului sunt numite generic *proteine de legare a penicilinelor* (PLP) pentru că penicilina, un analog structural al D-ala-D-ala, se fixează pe ele și inhibă sinteza peptidoglicanului.

Rigiditatea peretelui bacterian este condiționată de configurația sterică și mărimea ochiurilor rețelei de peptidoglican (fig.2-2). Numai *spirochetetele* au *perete flexibil*. Restul bacteriilor au perete rigid care le conferă anumite forme: sferice (cocii), de bastonaș (bacilii), ori filamentoză și ramificate (actinomicetele). Formele de bază ale bacteriilor variază între anumite limite: e.g., coci sferici, ovali, reniformi; bacili dreapți (cu extremități rotunjite,

Anatomia funcțională a bacteriilor

retezate drept, efilate sau măciucate), încurbați în virgulă ori helicoizi. Morfologia bacteriilor

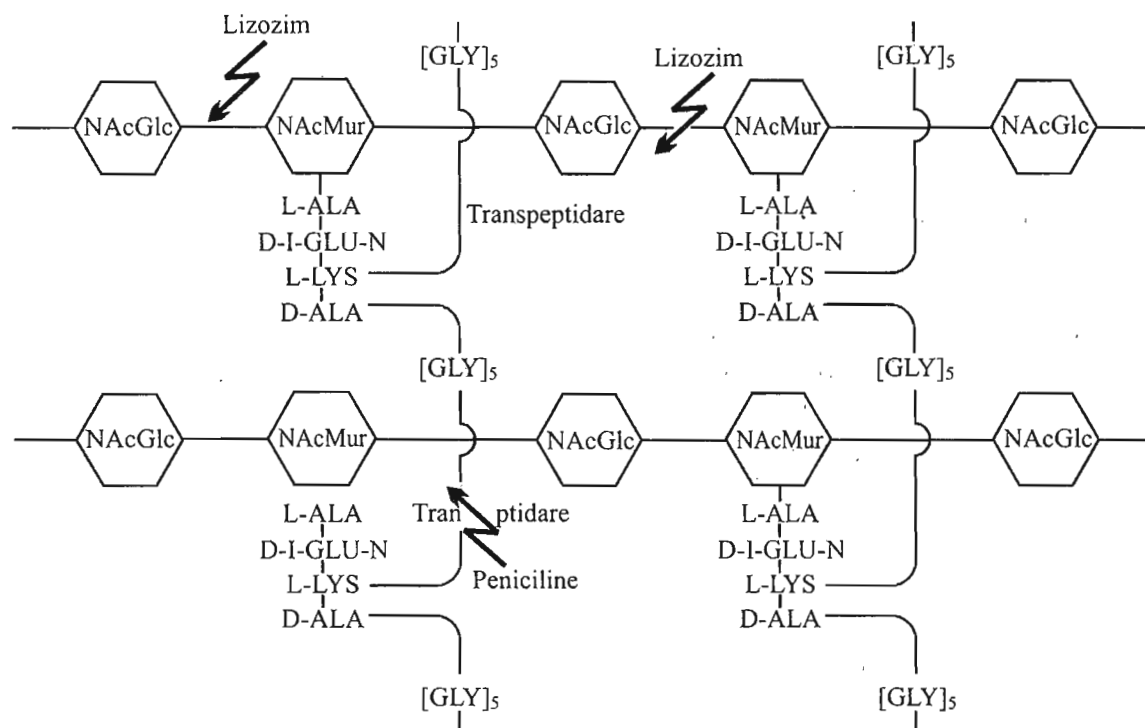


Fig. 2-1 Segment din rețeaua de peptidoglican a *Staphylococcus aureus* (vezi textul). Săgețile marchează situsul de acțiune al lizozimului și penicilinelor. Aminoacizii înlanțuiți în subunitățile și punțile peptidice sunt importante caractere taxonomice, care diferențiază speciile, dar studiul lor este accesibil numai chimiștilor. NAcGlc N-acetil glucozamină, NAcMur acid N-acetil muramic, L-ALA L-alanină, D-I-GLU-N D-isoglutamină, L-LYS L-lizină, D-ALA D-alanină, GLY glicină.

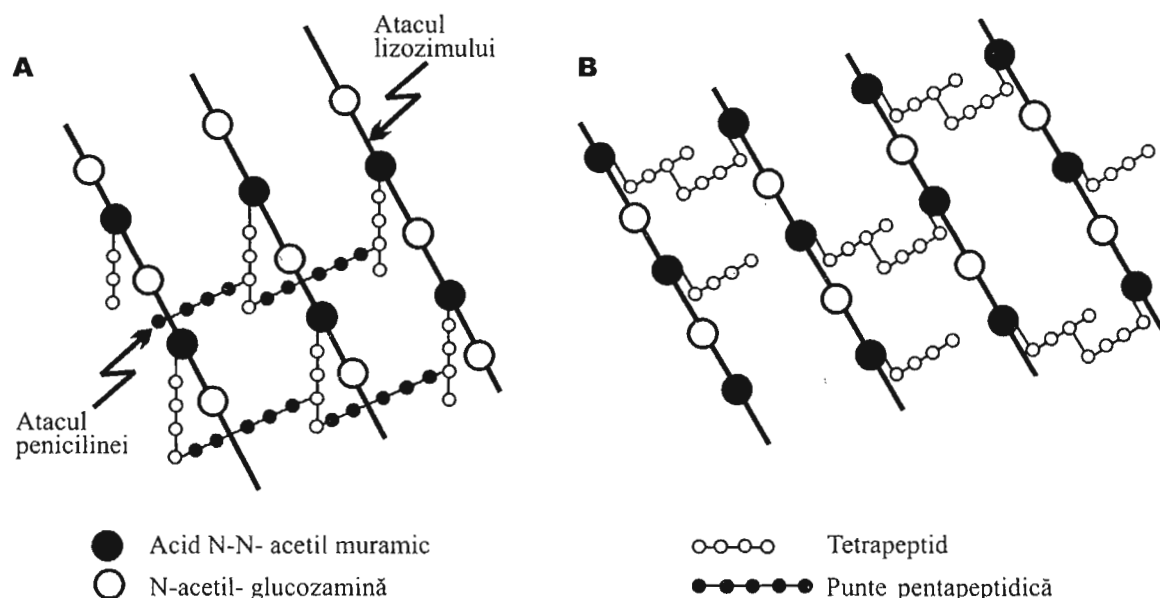


Fig 2-2 Peptidoglicanul are structură tridimensională cu ochiurile rețelei strânse la bacteriile gram-pozitive (A) și bidimensională cu ochiurile rețelei largi la bacteriile gram-negative (B).

mai este caracterizată și prin așezarea lor, care decurge din modul de înmulțire (diviziune, înmugurire, fragmentare), de poziția planurilor succesive de diviziune și numărul de generații după care se separă celulele surori (fig.2-3).

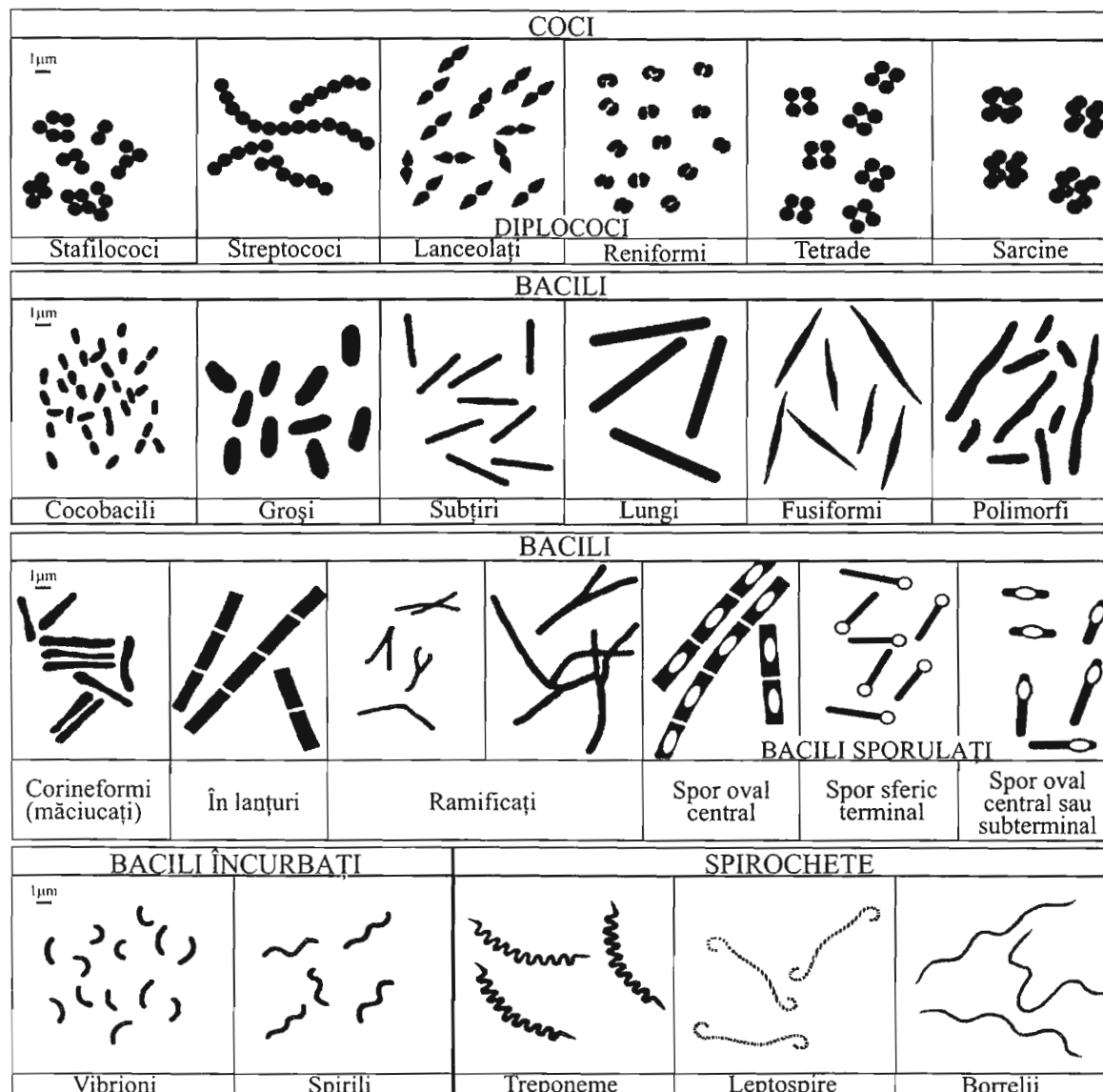


Fig. 2-3 Reprezentare schematică a morfologiei bacteriilor

Rezistența peptidoglicanului protejează protoplastul prin echilibrarea presiunii osmotice foarte mari (5-20 atmosfere) din citoplasma bacteriană. Sub acțiunea unor agenți muralitici (lizozim, peniciline etc.) apar defecte în structura peretelui, care duc la hernieri ale protoplastului, sau dacă sunt mai mari la explozia acestuia. Când agentul muralitic acționează într-un mediu osmotic protector (e.g., soluție 20% zaharoză, urină) protoplastul rămâne integru, dar ia formă sferică: devine *sferoplast*, dacă mai păstrează urme de perete (planșa 2.2.2), sau *protoplast complet nud*. Dacă agentul muralitic dispare din mediu, sferoplastii revin la forma inițială, caracteristică bacteriei, dar protoplastii nuzi nu revin. Aceasta arată că resturile de perete bacterian autodeclanșează sinteza și asamblarea peptidoglicanului. Bacteriile cu perete defectiv apărute în medii osmotice protectoare sunt numite forme „L”

Anatomia funcțională a bacteriilor

(planșa 2.2,3) – sigla Institutului Lister din Londra unde Klineberger Nobel le-a descris pentru prima dată.

Peretele bacterian, acest corset rigid, trebuie să se adapteze permanent protoplastului în creștere. Enzime autolitice rup limitat rețeaua de peptidoglican și permit inserția de noi molecule în puncte diseminate aleator pe suprafața bacteriilor gram-negative sau predominant în vecinătatea septului de diviziune la cele gram-pozitive.

În rezumat, *interesul medical al peptidoglicanului* decurge din: sensibilitatea la lizozim, interferența sintezei de către unele antibiotice cum sunt penicilinele, antigenitate, proprietăți de adjuvant imunologic.

2.2.2. Structurile speciale ale peretelui bacterian

Ceea ce vedem colorat în microscopia optică este numai protoplastul. Peretele bacterian nu este colorabil, dar condiționează profund colorabilitatea protoplastului în colorațiile pe care le numim diferențiale: Gram sau Ziehl-Neelsen.

Colorația Gram diferențiază bacteriile în gram-pozitive și gram-negative după cum acestea rețin coloranți violeti de anilină ori îi pierd sub acțiunea decolorantă a alcoolului după mordantare prealabilă prin soluție iodo-iodurată. Bacteriile care rețin colorantul violet le numim gram-pozitive, iar cele care se decolorează și, pentru a le observa, trebuie să le recolorăm (e.g., în roșu cu soluție de fucsină bazică) – gram-negative (CD 2-1). Urmăriți în planșa 2.2,4 principalele diferențe structurale între pereții bacteriilor gram pozitive și gram-negative.

2.2.2.1. Peretele bacterian de tip gram-pozitiv are peptidoglicanul organizat în rețea cu ochiuri strânse, tridimensională, groasă și omogenă (planșa 2.2,4). Structuri speciale asociate peptidoglicanului la bacteriile gram-pozitive sunt: acizii teichoici, teichuronici și lipoglicanii.

Acizii teichoici reprezintă cca 50% din greutatea uscată a peretelui gram-pozitiv și sunt polimeri hidrosolubili de ribitol sau glicerol fosfați. Se diferențiază în *acizi teichoici de perete*, legați covalent la peptidoglican, și *acizi teichoici de membrană (lipoteichoici)*, legați covalent de glicolipidele membranei citoplasmice. Funcțional, acizii teichoici:

- Stabilizează și întăresc peretele bacterian.
- Leagă ionii Mg^{2+} și creează micromediul ionic necesar funcționării enzimelor membranei celulare.
- Sunt antigene majore de suprafață utile pentru subtiparea serologică a bacteriilor gram-pozitive.

Acizii teichuronici conțin acid uric și polizaharide neutre. Sunt antigene care permit subtiparea unor bacterii gram-pozitive ca lactobacilii și streptococii.

Lipoglicanii (glicolipide) sunt identificați la un număr mare de bacterii gram-pozitive la care par a substitui acizii lipoteichoici.

➡ **2.2.2.2. Peretele bacterian de tip gram-negativ** este subțire, cu structură neomogenă, complexă, în care peptidoglicanul, dispus profund în rețea bidimensională laxă, reprezintă doar 15-20% din greutatea uscată a peretelui și are asociate următoarele structuri speciale: o membrană externă, lipoproteine și lipopolizaharide (planșa 2.1,4; fig.2-4).

Membrana externă este o structură asimetrică formată dintr-un film intern fosfolipidic și unul extern lipopolizaharidic ale căror molecule se privesc prin polul hidrofob. În acest *sandwich* fluid al membranei externe flotează mai multe tipuri de molecule proteice: porine, proteine de transport și enzime.

Porinele (Omp A, C, D, F, Lam B, Tsx) penetrează ambele fețe ale membranei și se

oligomerizează formând pori prin care au acces către protoplast moleculele mici hidrofile ale unor nutrienți. Porinele Omp A, C, D și F formează pori puțin specifici prin care difuzează

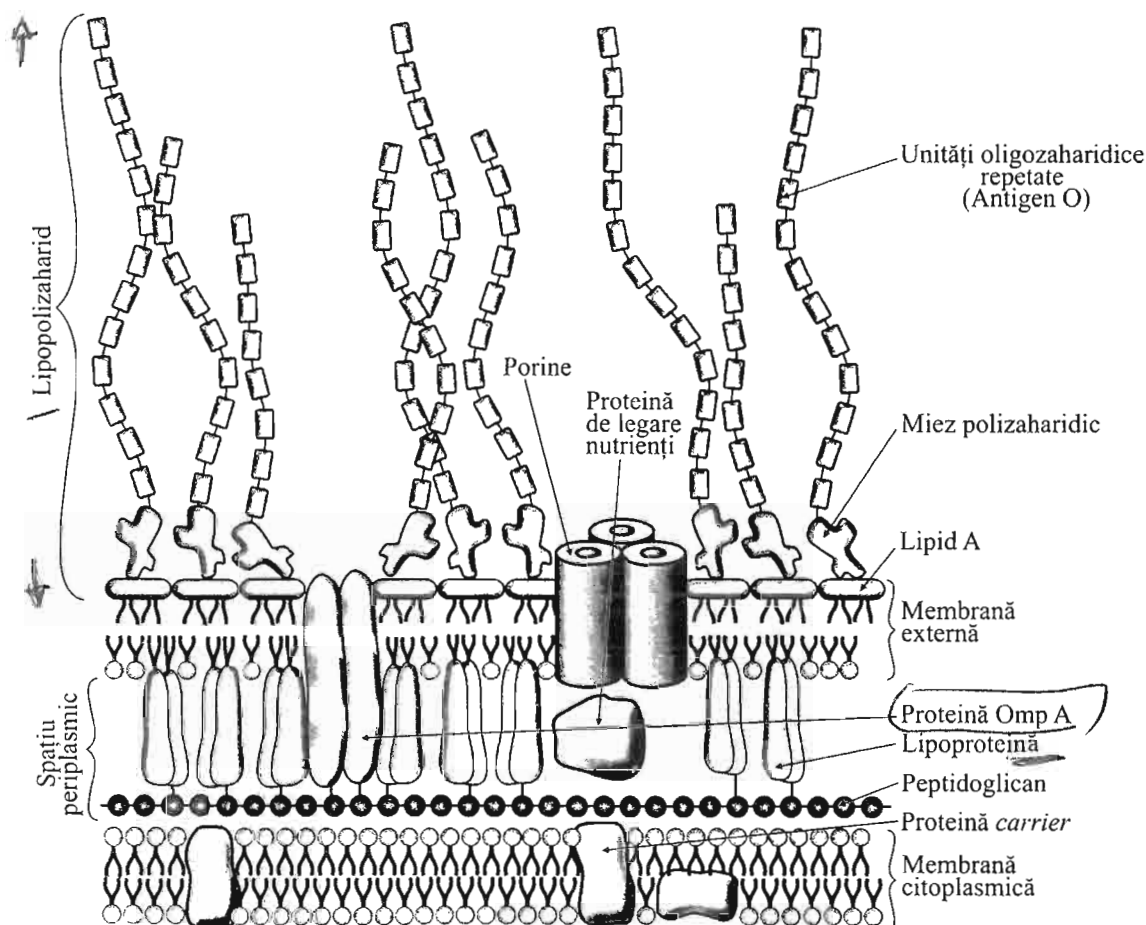


Fig. 2-4 Structura schematică a peretelui bacterian de tip gram-negativ (adaptat după B. Lugteberg și L.V. van Alphen, 1983)

liber mici molecule a căror greutate variază între 600 daltoni la unele *Enterobacteriaceae* și 3.000 daltoni la *Pseudomonas aeruginosa*. Porina Tsx este receptor pentru bacteriofagul T6 și asigură difuziunea transmembranară a nucleozidelor și unor aminoacizi. Lam B este o porină inductibilă care funcționează ca receptor pentru bacteriofagul λ și formează pori prin care difuzează cea mai mare parte din maltoză și maltodextrine. Omp A este o porină abundentă, cu molecule lungi care ancorează membrana externă la peptidoglican; este receptor pentru mai mulți bacteriofagi și pentru pili sexuali în conjugarea bacteriană (Capitolul 5).

Proteine specifice mai puțin numeroase, asigură transportul transmembranar energodependent al unor nutrienți cum sunt vitamina B₁₂, Fe³⁺ etc.

Lipoproteinele se leagă covalent, prin polul hidrofil, la peptidoglican și se inseră, prin polul hidrofob, în membrana externă solidarizând cele două structuri.

Lipopolizaharidul (LPS) este un heteropolimer linear dispus în film pe suprafața distală a membranei externe. În structura LPS identificăm:

–Un segment proximal, *lipidul A*, format din unități dizaharidice fosforilate de glucosamină legate prin punți pirofosfat de β -hidroxiacizi grași cu 10-17 C, caracteristici

Anatomia funcțională a bacteriilor

pentru grupe mari de bacterii (acidul β -hidroximiristic pentru *Enterobacteriaceae*, acidul β -hidroxidecanoic pentru *Pseudomonadaceae* etc.).

– Un *miez polizaharidic* a cărui parte profundă, formată din glucoză-heptoză și 2-ceto-3-deoxioctonat (KDO), numită „coloană vertebrală”, este comună tuturor bacteriilor gram-negative. Prin KDO miezul polizaharidic se leagă de glucozamina lipidului A. Miezul polizaharidic constituie antigenul R al bacteriilor gram-negative și este un important activator al complementului pe calea alternativă.

– *Unități zaharidice repetate* (trizaharide lineare la cele mai multe bacterii, dar pot fi și tetra- sau pentazaharide ramificate) maschează miezul polizaharidic și constituie un important antigen al bacteriilor gram-negative, pe care îl numim antigen O (fig.2-4). Antigenul O împarte speciile în grupe serologice. Acest antigen asigură bacteriei o puternică încărcătură electronegativă și hidrofilie, ambele implicate în stabilitatea suspensiilor bacteriene, aspectul neted, umed, lucios al coloniilor (forma de cultură S, de la engl. *smooth*: neted) și efectul antifagocitar. Prin mascarea miezului polizaharidic, antigenul O previne activarea complementului pe calea alternativă și privează gazda de o barieră antibacteriană cu eficiență imediată.

Lipopolizaharidul este codificat de mai multe gene. Mutații pot determina pierderea capacității de sinteză a segmentelor distale ale LPS, dar niciodată a lipidului A și KDO (fig.2-5). Mutantele R sunt favorizate prin subcultivarea pe medii artificiale și generează clone R (☞ Capitolul 5), care sunt autoaglutinabile, formează colonii rugoase (forma de cultură R, de la engl. *rough*: rugos), sunt ușor fagocitate și sunt lizate de complementul pe care îl activează pe calea alternativă.

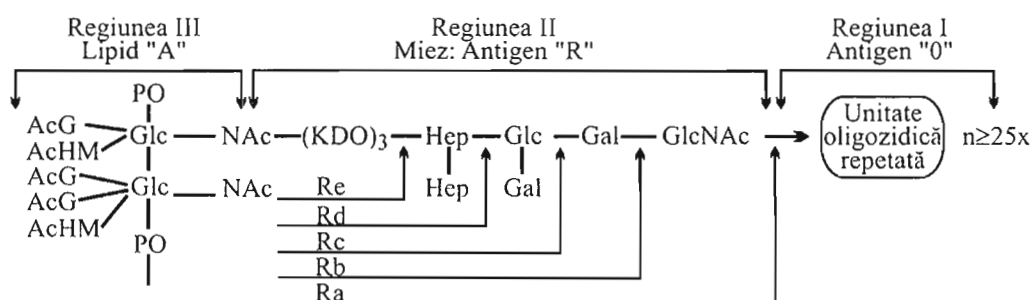


Fig. 2-5 Structura LPS și apariția mutantelor Ra-Re, funcție de segmentul molecular distal care nu mai poate fi sintetizat

Spațiul periplasmic se constituie între membrana citoplasmică și membrana externă a bacteriilor gram-negative. Conține: peptidoglicanul, enzime implicate în digestia extracelulară ori inactivarea unor antibiotice, fibrele axiale ale spirochetelor. Dacă adăugăm și permeabilitatea selectivă a membranei externe, înțelegem cum spațiul periplasmic conferă, mai ales bacililor gram-negativi, avantaje selective cum ar fi acapararea mediilor apoase minimale nutritiv, chiar în prezența unor substanțe antibacteriene. Bacteriile gram-pozitive, ale căror enzime se diluează în exterior, au nevoie de medii bogate în nutrienți și sunt natural mai sensibile la acțiunea substanțelor antibacteriene.

2.2.2.3. Peretele bacterian de tip acido-rezistent. Unele bacterii, ca micobacteriile, au asociate peptidoglicanului glicolipide complexe care le conferă particularități de colorabilitate. Coloranții nu penetrează în condiții uzuale prin peretele lor, încât aceste

bacterii se colorează slab sau deloc prin colorația Gram. Pot fi colorate însă la cald, în roșu, cu soluție de fucsină bazică concentrată și rezistă la decolorarea cu acizi și alcool. De aceea le numim bacterii acido-alcool-rezistente. În aceste condiții restul bacteriilor sunt decolorate – le numim neacido-rezistente – și pentru a fi observate le recolorăm cu albastru de metilen (CD 2-2). Lipidele reprezintă 60% din greutatea uscată a peretelui micobacteriilor, proporție mult mai mare decât la alte bacterii.

Structurile speciale ale pereților acido-rezistenți sunt: arabinogalactanul, acizii micolici, lipoarabinomananii și micozidele (fig.2-6).

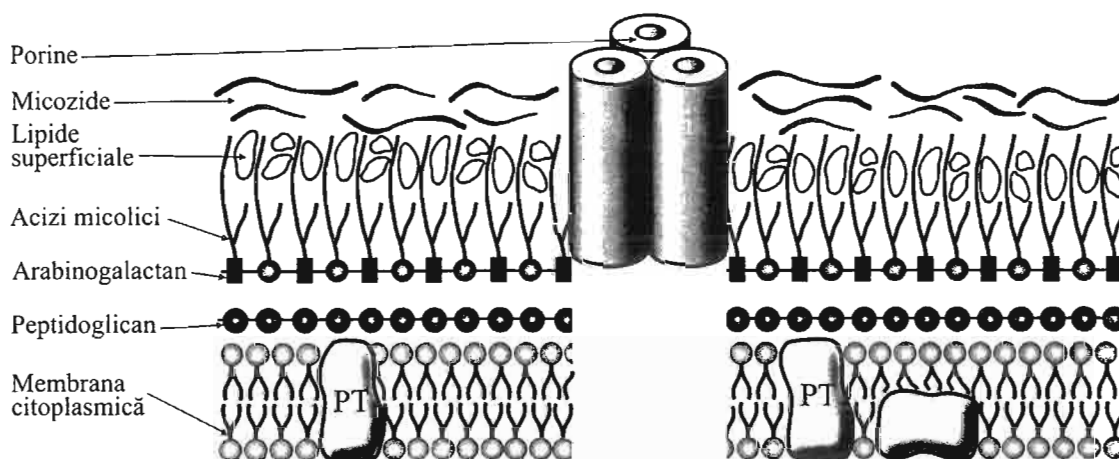


Fig. 2-6 Structura schematică a peretelui bacterian acido-rezistent

Arabinogalactanul este un polizaharid care acoperă peptidoglicanul și are unele dintre proprietățile endotoxinelor (Capitolul 6).

Acizii micolici sunt β -hidroxiacizi grași cu catenă lungă ramificată. Acido-rezistența este în raport cu lungimea catenei carbonatate a acizilor micolici: la micobacterii (puternic acido-rezistente) au 70-90 atomi de carbon, la nocardii (slab acido-rezistente) 40-60, iar la corinebacterii (neacido-rezistente) numai 22-38. Complexul arabinogalactan-acizi micolici conferă rezistență deosebită a micobacteriilor în mediul extern (desicare, antiseptice și dezinfectante), la majoritatea chimioterapicelor și limitează posibilitățile de izolare a acizilor nucleici micobacterieni pentru studii de biologie moleculară.

Complexul lipoarabinoglican și fosfolipidele micobacteriene influențează reacția tisulară a gazdei cu formarea de granuloame, metaplazierea macrofagelor în celule gigante multinucleate (celule Langhans) și celule epitelioide.

Micozidele sunt peptidoglicolipide și glicolipide fenolice care formează în jurul micobacteriilor un înveliș protector față de enzimele lizosomale din fagolizosomul macrofagelor.

2.3. STRATURILE S

Straturile S sunt un înveliș distal peretelui bacterian întâlnit la arheobacterii și la unele eubacterii care trăiesc în condiții extreme (de temperatură, pH, potențial redox) ori în nișe metabolic restrictive (e.g., restricții de fier). Au fost bine studiate la *Campylobacter*, *Helicobacter* și *Aeromonas*, la care pot reprezenta până la 20% din totalul proteinelor celulare. Apar ca structuri proteice sau glicoproteice paracristaline formate din multimeri cu forme pătrate, hexagonale ori cu dispoziție oblică. Antigenul O și unele porine ancorează stratul S la perete. Acest înveliș protejează bacteriile de fagocite, de molecule nocive ale gazdei (e.g., proteaze, complement, anticorpi), de infecția cu bacteriofagi. Poate lega Fe^{3+} , porfirine, numeroase proteine extracelulare.

2.4. GLICOCALIXUL PROCARIOT

Glicocalixul este un înveliș, în general polizaharidic, dispus distal peretelui numai la unele tulpini bacteriene, deci nu este caracter taxonomic.

Glicocalixul structurat dens nu poate fi separat de bacterie prin centrifugare și nu este penetrat de particule colorate încât este vizualizat, în colorațiile negative cu tuș de India ori nigrozină, ca o capsulă incoloră. Glicocalixul structurat lax, numit substanță capsulară ori *slime*, poate fi separat de corpii bacterieni prin centrifugare și este penetrat de particule colorate încât a fost studiat numai la microscopul electronic după colorație specială cu roșu ruteniu (planșa 2.3,1,2,3). Prin structura sa fibrilară, glicocalixul formează în jurul bacteriei o matrice anionică protectoare față de agenți chimici, de amoebe sau fagocite.

Funcționează ca ligand la membranele mucoase (planșa 2.3,1), la celulele eucariote și între celulele procariote (planșa 2.3,2) ori la suprafețe inerte (planșa 2.3,3,4). Ca ligand, glicocalixul are rol important în nutriția și virulența bacteriilor: prin rețeaua fibrilară a glicocalixurilor întrepătrunse citotoxinele și enzimele bacteriene difuzează direct către celulele eucariote, iar nutrienții rezultați din liza celulară direct către bacterie fără a se dilua în mediu (fig.2-7).

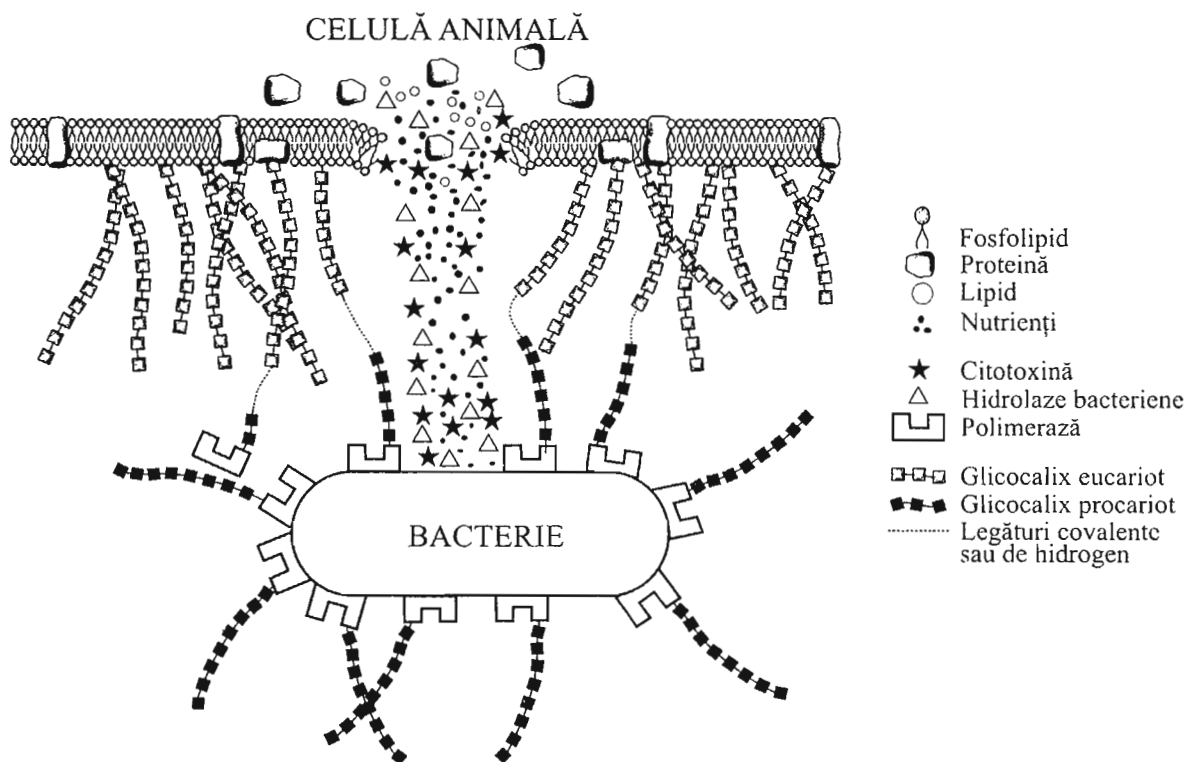


Fig. 2-7 Funcțiile glicocalixului bacterian: fibrele glicocalixului procariot și eucariot delimitează un micromediu în care citotoxinele și enzimele bacteriene difuzează, fără a se dilua în mediu, atacă și digeră structurile celulei animale pe care le canalizează ca nutrienți spre bacterie

2.5. ORGANITELE DE LOCOMOȚIE ALE BACTERIILOR

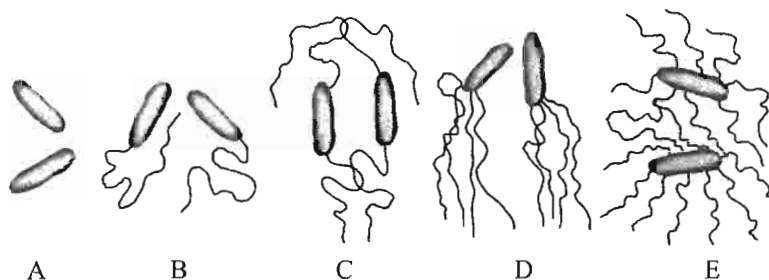
Mobilitatea bacteriilor este asigurată prin flageli sau prin fibre axiale.

Flagelii sunt organe filamentoase, lungi de 6-20 μm , flexuoase, uniform calibrate și cu structură proteică. Prin *microscopia* optică a preparatelor special colorate observăm absența ori prezența, cu numărul și dispoziția flagelilor (fig.2-8). Mobilitatea bacteriilor poate fi urmărită și indirect prin microscopia preparatului umed între lamă și lamelă

(☞ Subcapitolul 2.8.2.) sau prin cultivarea bacteriei într-o coloană de geloză moale însămânțată prin înțepare (fig.2-9). Prezența, numărul și dispoziția flagelilor sunt importante caractere taxonomice primare. Proteina flagelilor este antigen, antigenul H, cu specificitate de tip.

Fig. 2-8 Bacteriile pot fi:

- A atriche
- B monotriche
- C lofotriche
- D amfitriche
- E peritriche



Microscopia electronică ne arată structura fină a flagelilor bacterieni: filamentul lung și flexuos se articulează cu un cârlig rigid terminat cu un complex bazal format la bacteriile gram-pozitive dintr-un inel M, flotant în membrana citoplasmică, și unul S, supramembranar. La bacteriile gram-negative apar suplimentar un inel P, în stratul de peptidoglican, și unul L, flotant în membrana externă (planșa 2.2,4).

Fluxul de protoni dintre inelele M și S determină rotația cârligului, care se transmite flagelului. Chemotaxia bacteriilor este controlată de receptori membranari specifici care fixează atranșanți (molecule utile bacteriei) sau repelenți (molecule nocive) și generează un semnal transmis complexului bazal. Acest semnal determină sensul rotației inelelor și prin aceasta mișcarea bacteriei în gradientul chimic: apropierea de atranșanți, îndepărtarea de repelenți.

Fibrele axiale, analogii flagelilor la spirochete, sunt cuprinse în spațiul periplasmic, unde, pornind de la inserția lor polară se dirijează cu extremitatea liberă spre porțiunea mijlocie a protoplastului. La treponeme și borrelii fibrele axiale, mai subțiri și mai multe, se înrulează în jurul protoplastului (planșa 2.3,5). La leptospire sunt numai două, mai groase, constituind un axistil în jurul căruia se înrulează protoplastul (planșa 2.3,6).

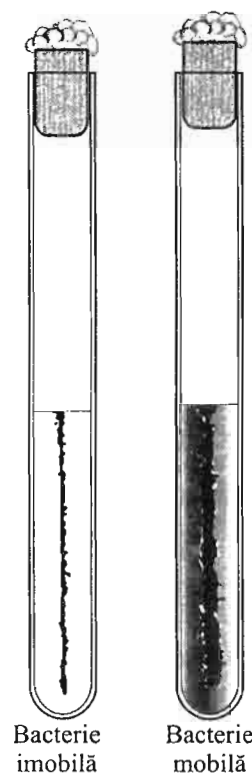


Fig. 2-9 Testul de mobilitate: o bacterie imobilă crește numai în lungul traiectului de însămânțare și lasă transparent mediul (A); una mobilă invadează și opacifică mediul (B)

2.6. PILII BACTERIENI

Pili sunt organite filamentoase rigide, mai scurte decât flagelii și vizibile numai la microscopul electronic. Pot fi pili comuni și pili sexuali. Ambele tipuri, codificate plasmidic (☞ Capitolul 5), sunt caractere de tulpină fără valoare taxonomică.

Pili comuni sau fimbriile sunt dispuși peritrich și funcționează ca adezine la receptori specifici de pe suprafața membranelor mucoase (planșa 2.4,1).

Pili sexuali sunt structuri tubulare prezente în număr redus pe suprafața bacteriilor gram-negative care poartă plasmide numite conjugoni pentru că acești pili, fixați pe receptori bacterieni specifici, sunt implicați în conjugarea bacteriană, una dintre modalitățile transferului genetic (☞ Capitolul 5).

2.7. ENDOSPORII BACTERIENI

Endosporii sunt forme de rezistență prin care speciile de *Bacillus* și *Clostridium* supraviețuiesc desicate în condiții defavorabile de mediu. Sunt particularizați printr-un complex de structuri codificate de gene represate în viața vegetativă a acestor bacterii și derepresate în condiții defavorabile de mediu, când devin represate genele vegetative. În structura unui endospor distingem:

- Protoplastul deshidratat și cu conținut mare de *dipicolinat de calciu*, care îi conferă termorezistență.

- Un sistem de învelișuri în care identificăm: *peretele sporal* structurat din peptidoglican; un *cortex* gros format dintr-un peptidoglican foarte sensibil la enzimele autolitice; două *tunici* proteice (internă și externă) bogate în cisteină și legături disulfidice, care asigură rezistența endosporilor la agenți chimici și radiații.

În stare deshidratată supraviețuiesc mulți ani. Endosporii receptează condițiile favorabile de mediu (prezența apei și unor nutrienți). Acest semnal declanșează germinarea, care începe prin activarea unei autolizine a cortexului. Apa și nutrienții difuzează spre protoplast, care, rehidratat, crește în volum și rupe învelișurile sporale eliberând bacteria în stare vegetativă (planșa 2.4,2).

Endosporii, ușor observați în microscopia uzuală, cu forma lor sferică ori ovală, dispuși central, subterminal sau terminal și cu diametrul mai mare sau mai mic decât al bacteriei, sunt importante caractere taxonomice primare. După colorația Gram rămân incolori. Pot fi mai bine observați prin colorații speciale care permit colorantului să treacă prin învelișurile sporale. Așa, în colorația Ziehl-Neelsen endosporii se colorează în roșu, iar bacteriile care îi conțin în albastru.

2.8. MICROSCOPIA UZUALĂ

2.8.1. Microscopul

Microscopul asociază două sisteme de lentile: **obiectivul**, sistem de lentile cu distanța focală de ordinul mm, situat către obiectul examinat, și **ocularul**, sistem de lentile cu distanța focală de ordinul cm, situat către ochiul examinatorului. Un **sistem mecanic** și un **sistem de iluminare** asigură focusarea și observarea optimă a obiectului examinat. Funcționarea cuplată a celor două sisteme de lentile oferă observatorului imaginea virtuală, mult mărită, răsturnată și plasată la distanța minimă vederii clare. (20-25 cm), care corespunde aproximativ nivelului mesei port-obiect a microscopului (fig.2-10).

În funcție de marcă, microscopul diferă prin detalii de amplasare și funcționare a reperelor sistemului mecanic și de iluminare. De aceea, în acest capitol găsiți numai descrierea lor generală, iar amănuntele le veți primi și respecta la lucrările practice, funcție de microscopul cu care veți lucra.

Partea mecanică a microscopului cuprinde: piciorul, corpul ansamblului mișcărilor, brațul, tubul și măsura port-obiect.

Piciorul (1) asigură stabilitatea microscopului.

Corpul ansamblului mișcărilor (3) include mecanismele și butoanele de focalizare grosieră și fină a imaginii obiectului (2) și butonul de focalizare a imaginii diafragmei de apertură a condensorului (5). Funcție de microscop, butoanele mișcării grosiere și fine sunt poziționate independent sau sunt coaxiale. Indiferent de situație, butonul mișcării fine este marcat în diviziuni care trec prin fața unui reper de pe colierul butonului. Fiecare diviziune asigură o mișcare pe verticală a tubului sau a mesei port-obiect (funcție de modelul microscopului) de ordinul micrometrilor. Domeniul de lucru al mișcării fine este de cca 1,7 mm. Mișcarea liberă în ambele sensuri a tubului respectiv a mesei port-obiect o asigurăm poziționând butonul la jumătatea cursei între aceste extreme.

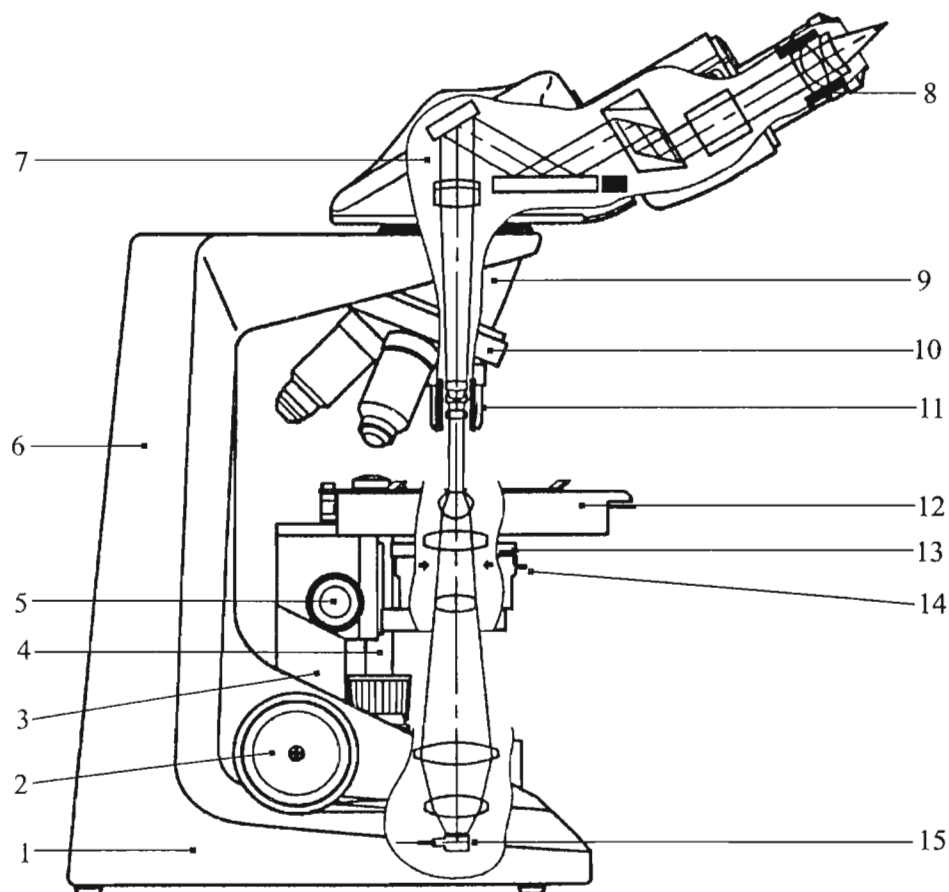


Fig. 2-10 Reperele microscopului optic Nikon CFI60 (vezi textul)

Brațul (6) poartă tubul optic al microscopului.

Masa port-obiect (12) are o deschidere centrală pentru iluminarea obiectului, suportii reglabili pentru fixarea lamei port-obiect și, la partea inferioară, două butoane concentrice care îi controlează mișcarea antero-posterioară și transversală (4). Două sisteme vernier permit măsurarea mișcărilor în fiecare axă.

Sistemul optic. *Tubul microscopului* (9) poartă cele două sisteme de lentile care formează imaginea obiectului examinat. *Ocularele* (8) sunt telescoape la partea superioară a tubului. Microscoapele moderne, mono- sau binoculare, asigură examinarea comodă prin înclinarea la 45° a sistemului ocular. Așa masa port-obiect este menținută permanent orizontală.

Anatomia funcțională a bacteriilor

La aceste microscopae razele care formează imaginea obiectului sunt dirijate către ochi printr-un sistem de lentile, oglinzi și prisme cuprins în angularea tubului (7). *Obiectivele* (11), înșurubate în *capul revolver* (10) din partea inferioară a tubului, pot fi aduse pe rând în axul optic. La rotirea capului revolver, un declic semnalează poziționarea corectă a obiectivului în ax.

Puterea de mărire a microscopului este produsul dintre puterea de mărire a obiectivului cu cea a ocularului și capului binocular (valori gravate pe montura acestor piese). Produsul arată de câte ori diametrul imaginii este mai mare decât diametrul obiectului examinat. *Distanța de lucru a obiectivului* este distanța dintre lentila frontală a obiectivului, când acesta este focalizat pe un preparat subțire, și suprafața lamei de acoperire a preparatului (fig.2-11). Distanța de lucru este invers proporțională cu puterea de mărire a obiectivului. De aceea, când focalizăm imaginea, pentru a evita spargerea preparatului și degradarea lentilei frontale a obiectivului prin apăsarea excesivă pe lamă, obiectivele cu mărire puternică trebuie manipulate cu atenție.

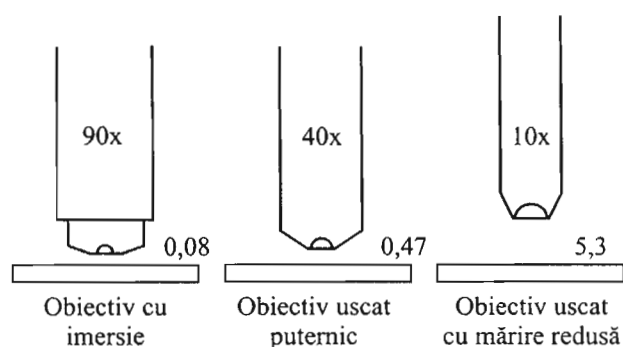


Fig. 2-11 Relația dintre puterea de mărire și distanța de lucru a obiectivelor

Mărirea utilă oferă detalii ale obiectului real. Când depășește o anumită limită mărire nu mai oferă aceste detalii și devine *mărire goală*, inutilizabilă. Mărirea utilă este funcție de *puterea de rezoluție* a obiectivului definită prin ecuația:

$$d = \frac{\lambda}{2AN},$$

unde: d este puterea de rezoluție (adică distanța minimă dintre două puncte luminoase ale preparatului pentru care obiectivul mai oferă ochiului imagini

distincte), λ lungimea de undă a luminii utilizate, AN apertura numerică a obiectivului. *Apertura numerică* exprimă cantitatea de lumină utilizată pentru formarea imaginii. Ea rezultă din ecuația:

$$AN = n \cdot \sin \alpha,$$

unde: n este indicele de refracție al mediului dintre obiect și lentila obiectivului, α semiunghiul de deschidere al lentilei aflat cu vârful în focar (fig.2-12). Obiectivele uscate au apertura numerică teoretică maximă 1,0 pentru că indicele de refracție al aerului este 1,0 iar $\sin 90^\circ$ (valoarea maximă a unghiului α când lentila obiectivului este aplicată pe obiect) este de asemenea 1,0. Obiectivele cu imersie folosesc între obiect și lentilă un mediu cu indicele de refracție mai mare decât al aerului și apropiat de cel al sticlei, ca uleiul de cedru cu $n = 1,515$.

Calitatea imaginii este funcție și de *capacitatea definitorie* a obiectivului, capacitatea de a forma imagini cu contur net, precis. Capacitatea definitorie este asigurată prin corecția aberațiilor sferică și cromatică a lentilelor. *Obiectivele acromate*, cu aberația cromatică corectată prin suprapunerea focarului a două radiații, le utilizăm în microscopia curentă și au apertura numerică de maximum 1,25. *Obiectivele apocromate*, cu aberația cromatică corectată prin suprapunerea focarului a trei radiații au apertura numerică maximă de 1,30.

Pe montura obiectivelor sunt gravate parametri care ne ajută să alegem cel mai indicat obiectiv pentru un scop dat: puterea de mărire, apertura numerică, lungimea tubului și grosimea lamei de acoperire a preparatului pentru care este corectat obiectivul (fig.2-13). Corecția aberațiilor este menționată numai pe obiectivele apocromate. În microbiologia clinică utilizăm curent obiective acromate (e.g., 10X/0, 30/160/-; 90X sau 100X/1,35/160/0,17) la care asociem, după necesitățile de mărire, oculare 5X, 7X, sau 10X.

Sistemul de iluminare. Sursa de lumină este inclusă în *talpa microscopului* (15), iar lumina focusată pe obiect printr-un *condensor* (13). La unele microscopae, pentru cazuri de forță majoră, o oglindă permite folosirea unei surse exterioare de lumină (e.g., lumina solară). Curent folosim *condensorul de câmp luminos*. Iluminarea adecvată a preparatului impune adaptarea aperturii numerice a condensorului, gravată pe montura lentilelor, la apertura numerică a obiectivului. Altfel, în microscop pătrunde fie prea multă lumină (strălucire supărătoare a imaginii), fie prea puțină (pierderea unor detalii ale imaginii). Cele două aperturi, a condensorului și obiectivului, sunt concordante când, coborând sau urcând condensorul, obținem cea mai clară imagine a diafragmei de apertură a condensorului. Cu cât ridicăm mai sus condensorul, cu atât apertura sa numerică crește și atinge o valoare nominală (maximă) când lentila condensorului se aplică pe fața inferioară a lamei port-obiect. *Diafragma de apertură* este o diafragmă iris manipulată printr-o pârghie laterală (14). Deschiderea spre maximum a diafragmei de apertură crește puterea de rezoluție, dar scade contrastul imaginii; invers, micșorarea ei scade puterea de rezoluție, dar crește contrastul imaginii.

Condensorul pentru câmp întunecat este un condensor cu oglinzi sferice concentrice (fig.2-14). Razele de lumină directe sunt oprite prin reflecție pe oglinda sferică centrală, ceea ce creează câmpul întunecat. Obiectul este iluminat numai prin raze oblice, care, reflectate și difractate, pătrund în obiectiv și formează imaginea luminoasă a obiectului pe fondul întunecat al câmpului microscopic.

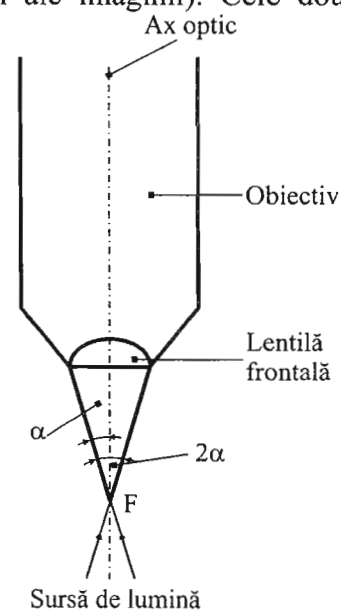


Fig. 2-12 Unghiul de apertură schematic

2.8.2. Preparate microscopice necolorate (umede)

Citoplasma, incoloră, are indice de refracție puțin diferit de al mediului de suspensie. De aceea în preparatele umede microorganismele sunt vizibile numai în condiții speciale de iluminare: e.g., reducerea diafragmei de apertură, microscopie pe fond negru. Examinăm preparate umede pentru a observa rapid mobilitatea bacteriilor sau prezența spirochetelor, a fungilor ori protozoarelor.

Pregătirea preparatului microscopic umed.

Depune pe o lamă curată și degresată o picătură din produsul de examinat folosind ansa sau o pipetă capilară. Cu grijă, pentru a nu prinde bule de aer, acoperă picătura cu o lamelă ale cărei margini le-ai uns în prealabil cu ulei de parafină pentru a preveni uscarea preparatului în cursul examinării.

Examinarea: așează preparatul pe masa port-obiect. Adu în axul microscopului cel mai convenabil obiectiv uscat. Privind lateral apropie obiectivul cât mai mult de preparat ținând cont de distanța de lucru a fiecărui obiectiv. Privește prin ocular și, acționând cu atenție butonul mișcării grosiere, mărește progresiv distanța dintre obiectiv și preparat până prinzi imaginea. Coboară condensorul și închide diafragma de apertură până obții cel mai convenabil contrast. Focusează imaginea, dacă mai este cazul, cu butonul

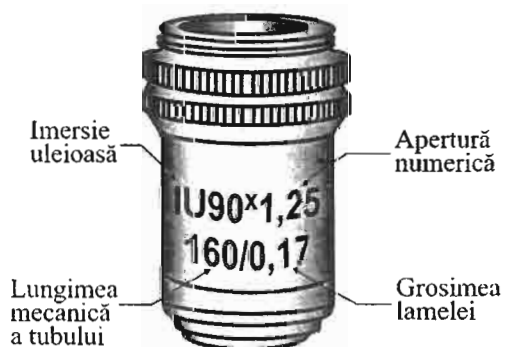


Fig. 2-13 Parametrii gravați pe montura unui obiectiv

mișcării fine (inoperant la examenul cu obiectivul 10X). O bacterie este mobilă când își schimbă poziția în raport cu alte bacterii. Nu confunda mișcarea browniană (oscilații pe loc ale obiectului) sau mobilizarea printr-un curent de fluid (mișcarea tuturor obiectelor în același sens) cu mobilitatea reală. După examinare, depune preparatul în recipientul cu soluție dezinfectantă.

Microscopia cu fond întunecat este examenul de elecție pentru observarea rapidă a spirochetelor cu mobilitatea lor caracteristică. Montează la microscop condensorul pentru iluminarea cu fond întunecat. Depune pe lentila superioară a condensoului o picătură de ulei de cedru. Pune preparatul umed pe masa microscopului cu grijă și fă contactul între lamă și condensor fără să prinzi bule de aer. Lamele pentru microscopia pe fond negru trebuie să aibă grosimea de 1,0-1,1 mm pentru a situa preparatul în focarul condensoului (distanța focală 1,2 mm). Examinează preparatul cu obiectivul 20X. După examinare, depune preparatul în recipientul cu soluție dezinfectantă. Șterge cu grijă uleiul de cedru de pe lentila condensoului.

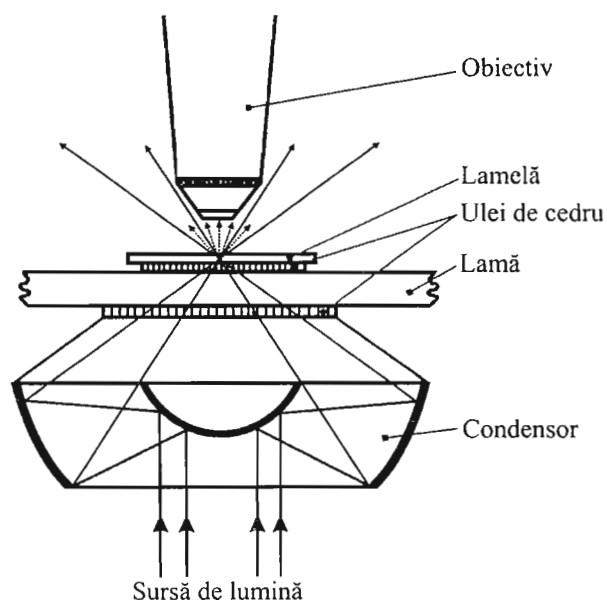


Fig. 2-14 Condensorul cu oglinzi sferice concentrice pentru iluminarea obiectului pe fond întunecat

prelevatul în centrul lamei. Etalează în strat cât mai subțire și uniform prin mișcări circulare excentrice fără a mai reveni cu ansa pe aceeași suprafață și fără a atinge marginile lamei.

- Colonii bacteriene. Depune o picătură de apă distilată în centrul lamei. Prelevă cu ansa o secțiune din colonie. Depune cultura lângă picătură și omogenizează-o într-o cantitate mică de apă prelevată din picătură. Unește cele două picături și etalează ca în cazul suspensiilor.

În cursul etalării evită ruperea peliculei de fluid prin ridicarea bruscă a ansei de pe lamă. Minimizați astfel formarea de aerosoli contaminanți.

Din fragmente de țesuturi putem efectua *amprente*: aplică lama pe suprafața de secțiune a piesei biopsice sau necropsice pentru a obține în zona centrală amprenta țesutului. Formațiuni granulare din puroi pot fi etalate prin zdrobire între două lame.

Usucă frotiul în aer. Uscarea pe o suprafață încălzită (platină încălzitoare) este mai rapidă și evită distorsiuni ale celulelor (e.g., din puroi, urină) prin hiperconcentrare salină lentă în centrul frotiului din prelevate patologice fluide.

Fixarea prin căldură. Trece lama, ținută cu frotiul în sus, prin flacăra unui bec de gaz de 2-3 ori, cca 5-10 secunde.

2.8.3. Preparate microscopice colorate

Efectuarea frotiului. Frotiul este materialul microbial (produs patologic, cultură microbială) etalat în strat cât mai subțire și uniform pe suprafața unei lame de microscop. Folosește lame de microscop curate (de preferință noi) și bine degresate. Marchează lama, la una din extremități, cu indicativul materialului microbial ce urmează a fi etalat. Efectuarea frotiului presupune trei timpi: etalarea, uscarea și fixarea.

Etalarea o facem diferit în cazul suspensiilor bacteriene (prelevate patologice, culturi în medii lichide) și al culturilor pe medii agarizate (planșa 2.4,3).

- Suspensii bacteriene. Prelevă aseptice o ansă din suspensia bacteriană. Depune

2.8.4. Colorarea

Prin colorare asigurăm un contrast mai bun între microorganisme, celule și fondul preparatului decât cel realizat în preparatele umede necolorate. În bacteriologie folosim coloranți bazici (săruri ale unei baze colorate cu acid incolor) derivați de pararozanilină (violet de metil, fucsină bazică, etc.) sau thionină (albastru de metilen), care au afinitate pentru structurile acide atât de bogate în celula bacteriană. Curent folosim colorația simplă cu albastru de metilen și colorațiile diferențiale Gram sau Ziehl-Neelsen.

Colorația simplă cu albastru de metilen. Pune pe suportul de colorare lama cu frotiul în sus. Acoperă frotiul cu soluția colorantă de albastru de metilen (de preferat soluție policromă). Menține 30-60 secunde. Spală cu apă de robinet. Usucă și examinează frotiul la microscop. Toate elementele (bacterii, celule) apar colorate în albastru. Excepție fac structurile care se colorează metacromatic în roz sau roșu.

Colorația diferențială Gram presupune colorarea, mordanțarea, diferențierea și recolorarea (CD 2-1).

(i) *Colorarea*: acoperă frotiul cu soluție 0,2% violet de metil. Menține un minut și spală cu apă de robinet.

(ii) *Mordanțarea*: spală frotiul cu câteva picături de soluție Lugol. Acoperă frotiul cu soluție Lugol și menține două minute. Varsă și, fără a spăla, treci la timpul următor.

(iii) *Diferențierea*. Acoperă frotiul cu amestec alcool 96°-acetonă (3/1 v/v). Dă lamei ușoare mișcări de înclinare pentru a favoriza decolorarea. Spală cu apă de robinet după 5-10 secunde frotiurile din culturi și după 10-15 secunde frotiurile din prelevate patologice.

(iv) *Recolorarea*. Acoperă frotiul cu soluție de fucsină fenicată Ziehl diluată 1/10. Menține 30 secunde. Spală cu apă de robinet, usucă și examinează microscopic.

Rezultate. Bacteriile gram-pozitive apar violete, cele gram-negative roșii, iar leucocitele cu citoplasma roz și nucleul roșu.

Controlul de calitate. Diferențierea corectă a caracterului Gram este esențială pentru identificarea bacteriilor. Pentru fiecare lot de reactivi și zi de lucru, colorează și examinează un frotiu martor efectuat din amestecul suspensiilor de *Escherichia coli* (bacil gram-negativ) și *Bacillus megaterium* (bacil gram-pozitiv) omorâte prin autoclavare. Pe frotiul martor diferența între bacilii roșii și cei violeți trebuie să fie netă (CD 2-2). Pe frotiurile din prelevate patologice, verifică în primul rând culoarea leucocitelor, elementul constant gram-negativ. Dacă leucocitele sunt violete, diferențierea a fost insuficientă. Caută câmpuri cu leucocite roșii. Prezența bacteriilor violete printre leucocitele roșii garantează o bună diferențiere. Nu mai avem aceeași siguranță dacă bacteriile prezente în produs sunt exclusiv gram negative.

Colorația diferențială Ziehl-Neelsen presupune: colorarea, diferențierea și recolorarea (CD 2-3).

(i) *Colorarea*: acoperă frotiul cu soluție de fucsină fenicată Ziehl. Încălzește lama cu lampa de spirt până la emiterea de vaporii. Menține 3-5 minute această temperatură. După răcire, spală abundant lama cu apă de robinet.

(ii) *Diferențierea*: acoperă frotiul cu soluție 3% de acid clorhidric în alcool de 96°. Decolorează până când frotiul rămâne alburui după spălarea cu apă.

(iii) *Recolorarea*: acoperă frotiul cu soluție de albastru de metilen pentru 30 secunde. Spală cu apă de robinet, usucă și examinează microscopic.

Rezultate. Bacilii acido-rezistenți apar roșii, iar bacteriile neacido-rezistente și leucocitele albastre.

Controlul de calitate. Colorează și examinează două frotiuri. Unul dintr-o suspensie de bacili acido-rezistenți, celălalt dintr-o suspensie de bacili neacido-rezistenți. Pe primul frotiu trebuie să vedem numai bacili roșii, pe al doilea numai albaştri.

2.8.5. Microscopia cu imersie și descrierea unui frotiu

Examinarea. Depune o picătură de ulei de cedru pe frotiu fără a-l atinge cu bagheta. Fixează lama pe măsuta microscopului. Adu în axul optic obiectivul cu imersie. Ridică condensorul la maxim. Privind lateral, acționează butonul mișcării grosiere pentru a aduce în contact obiectivul cu uleiul de cedru cât mai aproape de lamă. Privește prin ocular și manipulează atent butonul mișcării grosiere pentru a îndepărta obiectivul de preparat până prinzi imaginea. Focusează imaginea acționând butonul mișcării fine.

La terminarea examenului: distanțează obiectivul de preparat și ia lama de pe masa microscopului. Îndepărtează complet uleiul de cedru de pe lentila obiectivului prin ștergere cu o hârtie specială sau cu pulpa degetului (care trebuie șters imediat cu tifon) pentru a nu murdări prin atingere suprafețe ale microscopului. Scoate obiectivul din ax prin rotirea revolverului. Acoperă microscopul cu husa sau pune-l în cutie.

Descrierea frotiului. Bacteriile observate trebuie descrise în termeni de categorie microscopică (formă, mărime relativă, așezare, afinitate tinctorială), număr și raporturile cu celulele din prelevatul patologic (celule inflamatorii sau celule epiteliale scuamoase).

Planşe

CAPITOLUL 2

PLANȘA 2.1

2.1 ANATOMIA FUNCȚIONALĂ A BACTERIILOR

1. Secțiuni ultrafine prin bacterii, electronomicrografii: **c** capsulă, **g** glicocalix, **mc** membrană citoplasmică, **m** mezosomi, **n** nucleoplasmă, **p** perete, **s** sept de diviziune.

2. Nucleoplasma bacteriană, aspecte: **sus** microscopie optică pe preparat colorat Feulgen după hidroliza acizilor nucleici. Nucleoplasma apare ca un corp cromatic. Feulgen pozitiv (funcția aldehydică a dezoxiribozei recolorează în roșu fucsina bazică decolorată în prealabil de acidul sulfuros). Observați forma ovală, alungită în bastonaș, în halteră sau în V a nucleoplasmei, funcție de stadiul diviziunii bacteriene. În cartuș aspectul preparatului cu o mărire mai redusă; **jos** detaliu electronomicrografic: nucleoplasma la începutul autoreplicării (stânga) și spre sfârșitul acesteia (dreapta).

3. Autoradiografia cromosomului de *Escherichia coli*. Pe schemă: linia continuă sugerează catena parentală iar linia întreruptă – catena progenă. (J. Cairns, 1963)

4. Ribosomi bacterieni, electronomicrografii: **A** cele două componente ale ribosomilor, reunite și separate, fotografiate din mai multe unghiuri; **B** ARNm (săgeata) tradus de ribosomi alineați în polisom (în stânga segmentul de cromosom de unde a fost transcris mesajul genetic); **C** zonă dintr-o celulă de *E. coli*, observați densitatea mare a ribosomilor alineați în polisomi.

NUTRIȚIA, METABOLISMUL ȘI CREȘTEREA BACTERIILOR

3

GABRIELA COMAN

„Dacă o bacterie funcționează cu virtuozitate, aceasta se datorează faptului că strămoșii săi și-au exercitat dibăcia în această chimie, timp de două miliarde de ani, notându-și cu conștiinciozitate rețeta fiecărei reușite...”

Ceea ce încearcă să facă fără întrerupere o bacterie sunt două bacterii. Iată, pare-se singurul său țel, singura sa ambiție. Visul fiecărei celule: să devină două celule.”

FRANÇOIS JACOB

Celula bacteriană este capabilă să-și sintetizeze propriile macromolecule, structurale și funcționale, plecând de la compuși cu greutate moleculară mică pe care îi obține prin degradarea compușilor macromoleculari prezenți în mediul de viață.

3.1. NUTRIȚIA BACTERIANĂ

Nutriția este asimilarea de către bacterii a substanțelor nutritive, organice și anorganice, din mediul extern, necesare metabolismului. **Nutrienții** sunt substanțe ale căror soluții pot traversa membrana citoplasmatică, urmând să participe apoi la reacțiile metabolice care asigură creșterea și înmulțirea celulei.

În mediile naturale, bacteriile găsesc pentru nutriție compuși din care derivă nutrienții, unii prin simplă solvare (săruri minerale, CO_2 , O_2), alții după o **digestie extracelulară** prealabilă, cu intervenția unor hidrolaze (proteaze, lipaze, amilaze, etc.). Produsele care iau naștere sunt scurte fragmente polipeptidice sau aminoacizi în cazul proteinelor, monozaharide în cazul polizaharidelor, acizi grași și glicerol în cazul substanțelor lipidice, nucleozide și fosfați anorganici în cazul acizilor nucleici. Pentru a fi folosiți în metabolism, acești nutrienți trebuie să ajungă în citoplasmă traversând membrana citoplasmatică.

– fie prin **difuziune simplă** sau **facilitată** (cu participarea unor proteine carrier), dictate de diferențe de concentrație, de o parte și de alta a membranei citoplasmatică,

– fie printr-un **transport activ** contragradient (majoritatea nutrienților), cu consum de energie obținută prin hidroliza ATP și cu participarea unor enzime numite permeaze; în aceste condiții, concentrația intracelulară a compușilor respectivi poate să fie de până la 1000 de ori mai mare decât în mediu.

3.1.1. Necesități nutritive de bază

Bacteriile diferă între ele în raport cu necesitățile nutritive. Principalele elemente, cu rol structural și funcțional, necesare pentru majoritatea bacteriilor sunt: C, N, O, diferite elemente minerale.

Surse de carbon. Carbonul este elementul cel mai bine reprezentat în structura celulei bacteriene, realizând aproximativ jumătate din greutatea uscată a acesteia. Sunt bacterii care

trăiesc liber în natură și care sunt capabile să folosească CO_2 ca unică sursă de C, numite **autotrofe**. Bacteriile de interes medical necesită compuși organici ca sursă de C, în special carbohidrați, dar și proteine și lipide, ce servesc în același timp ca surse de energie; asemenea bacterii se numesc **heterotrofe**. Prezența CO_2 poate fi importantă și la heterotrofe în sinteza unor metaboliți esențiali în care intervine o reacție de carboxilare, bacterii **capnofile** sau **carboxofile**.

Surse de azot. Pentru sinteza proteinelor, care reprezintă 10% din greutatea lor uscată, bacteriile pot utiliza N dintr-o sursă organică (peptide, aminoacizi) sau anorganică (săruri de amoniu). Bacterii care trăiesc liber în natură pot folosi N din nitrați sau direct din atmosferă.

Surse de oxigen. Atomii de O sunt prezenți în multe molecule biologice (aminoacizi, nucleotide, gliceride etc.) și ajung în celule prin nutrienți; în plus, sub formă de oxigen molecular (O_2) este necesar pentru generarea energiei în cadrul respirației aerobe.

Elementele minerale. Sulfur este prezent în unii aminoacizi sub formă de grupări tiol (-SH), vitamine (tiamina, biotina), coenzima A, putând fi asimilat din compuși organici sau anorganici. Fosforul este esențial pentru sinteza acizilor nucleici, fosfolipidelor membranare, ATP, fiind asimilat sub formă de fosfați anorganici. Alte elemente ca Na, K, Mg, Cl intervin în asigurarea echilibrului fizico-chimic al celulei; Fe, Ni, Se intră în structura chimică a unor enzime (citocromi, peroxidaze, hidrogenaze), Ca formează cu acidul picolinic dipicolinatul de Ca care este prezent în cantitate mare în citoplasma endosporilor bacterieni. Acești ioni sunt asimilați sub formă de săruri minerale. Co, Cu, Mn, Mo intervin ca activatori enzimatici, fiind necesari în cantități infime (oligoelemente), prezenți ca impurificatori ai unor nutrienți.

3.1.2. Factori de creștere

Unele bacterii, prin echipamentul enzimatic de care dispun, pot obține toți compușii necesari metabolismului de sinteză în condițiile cultivării pe un mediu ce conține apă, săruri minerale și un singur compus organic cum este glucoza. Majoritatea bacteriilor de interes medical sunt incapabile să-și sintetizeze unii metaboliți esențiali, numiți **factori de creștere**, necesari a fi prezenți în mediu: aminoacizi, baze purinice sau pirimidinice, vitamine. Bacteriile dependente de numeroși factori de creștere se numesc fastidioase.

Nevoia în factori de creștere ai unei specii bacteriene poate fi satisfăcută prin prezența unei alte specii care sintetizează factorul de creștere respectiv, fenomen cunoscut sub numele de **sintrofie**. De exemplu, necesitățile *Haemophilus influenzae* în factor V (NAD) pot fi satisfăcute de *Staphylococcus aureus* care sintetizează acest factor, *H. influenzae* cultivând satelit în jurul coloniilor de *S. aureus* pe geloză-sânge (CD 3-1).

Pierderea unei enzime prin mutație poate bloca o secvență metabolică oprind sinteza unui metabolit esențial. Rezultă un mutant **auxotrof**, tulpina parentală fiind numită **prototrofă**. Creșterea mutantului continuă numai dacă acest metabolit apare preformat în mediu (mutante auxotrofe pentru metionină, treonină etc.). Auxotrofia oferă avantaje selective: în prezența factorului de creștere, o bacterie auxotrofă se multiplică mai rapid decât tulpina prototrofă de origine.

Bacteriile patogene, ca urmare a adaptării la viața parazitară au devenit dependente de numeroși factori de creștere, unele atât de dependente de mediul lor natural încât nu au putut fi cultivate *in vitro* (*Treponema pallidum*, *Mycobacterium leprae*).

Cunoașterea necesităților nutritive ale diferitelor specii bacteriene permite utilizarea unor medii de cultură adecvate pentru izolarea acestora din produse patologice.

3.1.3. Medii de cultură

Un mediu de cultură este o soluție apoasă a unor substanțe nutritive; satisfacerea în nutrienți și factori de creștere ale speciei ce urmează a fi cultivată constituie una din condițiile de bază ale unui mediu de cultură. Numeroase tipuri de medii de cultură pot fi utilizate, acestea putând fi clasificate în raport cu diferite criterii.

După proveniența nutrienților:

- **Medii empirice**, a căror compoziție în nutrienți este dificil de controlat, aceștia provenind din produse de origine animală sau vegetală (mușchi de vită, cord, creier, ficat, ou, levuri, soia etc);
- **Medii sintetice** ce conțin ingrediente pure, permițând studiul necesităților nutritive minime ale diferitelor specii bacteriene.

În raport de valoarea nutritivă:

- **Medii simple** ce conțin numai ingrediente de bază: extract de carne, peptonă (produs de hidroliză enzimatică din proteine animale sau vegetale), clorură de sodiu, permițând cultivarea bacteriilor nepretențioase nutritiv;
- **Medii îmbogățite** (cu adaos de sânge, ser, ou, extract de levuri etc.) care asigură cultivarea unor bacterii exigente.

După consistență:

- **Medii lichide**, repartizate în eprubete sau baloane, sunt folosite pentru însămânțarea produselor monobacteriene și studiul unor caractere biochimice;

• **Medii solide**, repartizate în cutii Petri sau eprubete (în pantă sau pantă și coloană), pe suprafața căroră celulele bacteriene, izolate sau în agregate mici, se fixează și se multiplică, determinând în final un conglomerat vizibil cu ochiul liber numit **colonie**. Consistența acestora este obținută:

– cel mai frecvent prin includerea unui fitocoloid obținut din specii de alge marine (*Gelidium*, *Gracilaria*, *Pterocladia*) numit **agar** care are următoarele calități: (a) se lichefiază la temperatura de fierbere a apei, dar nu se solidifică până la aprox. 42°C, (b) permite menținerea solidă a mediilor de cultură în limite largi de temperatură, 0-80°C, (c) nu este utilizat ca nutrient de către bacterii, nefiind astfel degradat în cursul cultivării;

– prin coagularea termică a proteinelor din ser sau ou.

- **Medii semisolide**, ce conțin o concentrație mai redusă de agar, sunt repartizate în eprubete (în coloană), fiind folosite în studiul mobilității bacteriilor, a unor caractere metabolice sau pentru conservarea tulpinilor bacteriene.

După scopul utilizării:

- **Medii de izolare:**

– medii uzuale (e.g., geloza-sânge), care satisfac exigențele nutritive pentru o gamă largă de specii bacteriene cu interes medical. Servesc la însămânțarea produselor monobacteriene sau a celor cu floră asociată, permițând aprecieri atât calitative cât și cantitative ale bacteriilor dintr-un produs patologic;

– medii selective sunt medii solide care conțin ingrediente (antibiotice, coloranți, săruri biliare, azid de sodiu etc.) cu acțiune inhibitorie asupra unor bacterii, favorizând izolarea preferențială a anumitor specii dintr-un produs plurimicrobian;

– medii de îmbogățire sunt medii lichide care favorizează multiplicarea anumitor bacterii, a căror izolare o urmărim, prin inhibarea selectivă a florei de asociație. Servesc pentru izolarea unor bacterii patogene care se găsesc în număr redus în produse patologice,

Nutriția, metabolismul și creșterea bacteriilor

fiind folosite în combinație cu medii selective (din cultura pe medii de îmbogățire facem însămânțări pe medii selective);

–*medii diferențiale* au în compoziție un substrat pentru anumite enzime bacteriene permițând diferențierea acestora în culturi primare (e.g., diferențierea streptococilor după aspectul zonei de hemoliză din jurul coloniilor pe geloză sânge; diferențierea enterobacteriilor în lactozo-pozitive sau -negative pe medii care conțin carbohidratul respectiv și un indicator de pH). Atât mediile uzuale cât și mediile selective pot funcționa și ca medii diferențiale.

• **Medii de identificare** conțin unul sau mai multe ingrediente (medii multitest sau politrope) care sunt substratul pentru anumite enzime bacteriene, ca sistem indicator al acestor activități putând servi diverși reactivi chimici ce pun în evidență produși particulari intermediari sau finali de metabolism (e.g., indol, H_2S , acetoină) sau un indicator de pH care permite recunoașterea degradării unor zaharuri sau aminoacizi. Servesesc la încadrarea unei tulpini bacteriene din cultură pură într-o anumită unitate taxonomică (gen, specie);

• **Medii de conservare** în laborator a unor tulpini bacteriene în cultură pură, pentru o perioadă limitată de timp (e.g., cultura unor bacterii nepretențioase nutritiv pe geloză semisolidă în coloană, în tuburi ermetic închise, stocate la temperatura frigiderului).

3.2. METABOLISMUL BACTERIAN

Este ansamblul reacțiilor biochimice care caracterizează cele două etape: **catabolism** și **anabolism**. În cadrul catabolismului bacterian, compușii organici cu structură complexă sunt degradați în compuși simpli, cu ruperea legăturilor chimice ce înmagazinează energie și eliberarea acesteia. În cadrul anabolismului bacterian, are loc construirea de molecule complexe organice (proteine, polizaharide, lipide, acizi nucleici), necesare structurii și funcțiilor celulare, din compușii simpli rezultați din reacțiile catabolice, cu consum de energie. Reacțiile metabolice se realizează cu participarea unor enzime specifice.

Energia provenită din reacțiile catabolice este conservată temporar în molecula ATP și apoi eliberată prin defosforilare ($ATP \rightarrow ADP + P$) pentru desfășurarea reacțiilor anabolice sau pentru unele funcții celulare cum sunt transportul activ transmembranal și mobilitatea flagelilor; aprox. 45% din energie se pierde sub formă de căldură (fig.3-1).

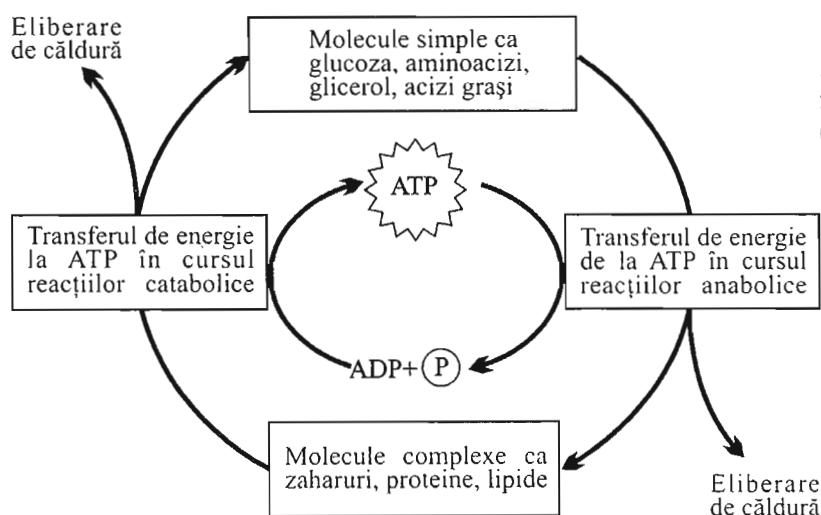


Fig. 3-1 Rolul ATP în cuplarea reacțiilor catabolice și anabolice (după Tortora G. J., Funke B. R. și Case C. L.)

3.2.1. Catabolismul

Studiul metabolismului bacterian presupune cunoașterea căilor prin care bacteriile obțin energia, o conservă și o utilizează în procesele de biosinteză. Bacteriile care obțin energia din reacții chimice de oxido-reducere poartă numele de **chimiotrofe**, spre deosebire de bacteriile **fototrofe** care folosesc energia radiațiilor luminoase. Reacțiile de oxido-reducere sunt definite prin pierdere și câștig de electroni, ceea ce presupune un donor și un acceptor de electroni. Donorul poate fi o substanță anorganică la **chimiolitotrofe**, sau o substanță organică la **chimioorganotrofe**. Bacteriile de interes medical fac parte din ultima categorie (fig.3-2).

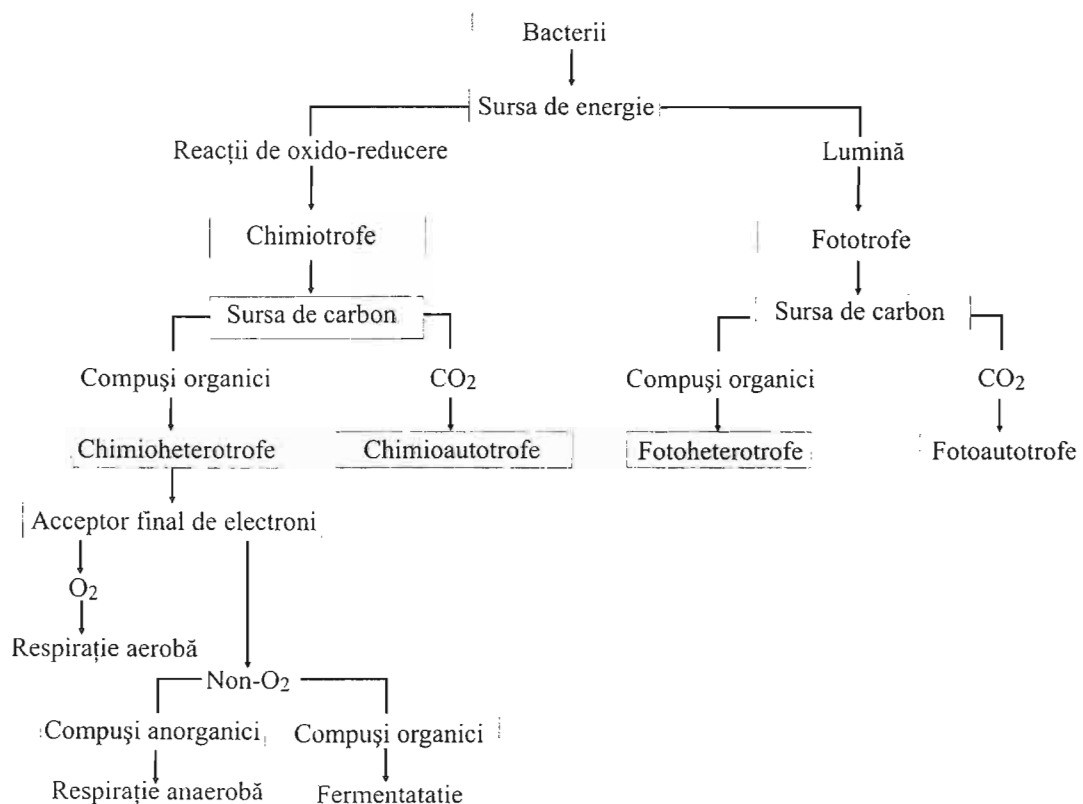


Fig. 3-2 Clasificarea bacteriilor în raport de particularitățile metabolice

3.2.1.1. Catabolismul hidraților de carbon. Deși multe molecule organice pot fi utilizate ca surse de energie (aminoacizi, purine, pirimidine, acizi grași), catabolismul carbohidraților are o deosebită importanță, glucoza fiind cea mai folosită. Pentru eliberarea de energie din glucoză, bacteriile pot utiliza două procese: **respirația** și **fermentația**, prin respirație carbohidrații fiind utilizați mai eficient. Ambele încep cu glicoliza, dar ulterior următoarele secvențe diferă.

(1) **Respirația celulară.** Este definită ca un proces generator de ATP în care o serie de molecule sunt oxidate, acceptorul final de electroni fiind o moleculă anorganică:

- în **respirația aerobă** acceptorul final este O_2 ;
- în **respirația anaerobă** acceptorul final este, cel mai frecvent, o moleculă anorganică, alta decât O_2 : ionul nitrat (NO_3^-), sulfat (SO_4^{2-}) etc.; în absența oxigenului, unele bacterii aerobe ca *Pseudomonas aeruginosa* pot obține energia necesară prin respirație anaerobă (e.g., respirația nitrților).

În procesul de respirație, care presupune numeroase serii de reacții de oxido-reducere, catabolismul glucozei urmează trei etape principale: glicoliza, ciclul acizilor tricarboxilici, lanțul transportului de electroni (fig.3-3).

Glicoliza corespunde oxidării glucozei până la acid piruvic, cu generarea în final a 2 molecule ATP și 2 molecule NADH (calea Embden-Meyerhof-Parnas). Acest proces nu necesită oxigen și poate avea loc atât în

Nutriția, metabolismul și creșterea bacteriilor

condiții aerobe cât și anaerobe. Sunt bacterii care au căi alternative pentru oxidarea glucozei (glicoliză modificată): calea pentoză-fosfat și calea Entner-Doudoroff.

Calea pentoză-fosfat operează simultan cu glicoliza; prin pentozele intermediare pe care le produce joacă un rol important în sinteza unor molecule biologice: acizi nucleici, unii aminoacizi. Această cale este mai puțin eficientă, pentru fiecare moleculă de glucoză oxidată se câștigă numai o moleculă ATP.

Calea Entner-Doudoroff este o alternativă pentru oxidarea glucozei la acid piruvic, din care rezultă 2 molecule NADPH și o moleculă ATP. Bacteriile gram-negative aerobe care au enzime pentru această cale metabolică pot să nu recurgă la glicoliză sau calea pentoză-fosfat.

Ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs) cuprinde o serie de reacții biochimice în care energia potențială este eliberată pas cu pas, prin oxidarea completă a acidului piruvic. Acest ciclu include reacții de decarboxilare prin care are loc conversia în CO_2 a celor 6 atomi de carbon conținuți în molecula de glucoză și reacții de oxido-reducere din care rezultă 6 molecule de NADH și 2 molecule de FADH și sunt generate 2 molecule de ATP.

Mulți din compușii intermediari ai ciclului Krebs servesc proceselor de biosinteză, acest ciclu fiind o **cale amfibolică** folosită de bacterii atât în procesele catabolice cât și anabolice.

Enzimele care participă la realizarea glicolizei și ciclului Krebs sunt localizate în citoplasmă.

Lanțul transportului de electroni. Coenzimele reduse NADH și FADH (purători intermediari de electroni) sunt cele mai importante produse ale ciclului Krebs, deoarece conțin cea mai mare cantitate din energia prezentă în glucoză. În lanțul transportor de electroni, printr-o serie de reacții de oxido-reducere, energia stocată în aceste coenzime este transferată în molecula ATP, proces care se desfășoară la bacterii la nivelul membranei citoplasmatică. În acest lanț sunt incluse 3 clase de molecule *carrier*: **flavoproteine** (proteine care conțin flavina, o coenzimă derivată din vitamina B_2), **citocromi** (proteine care conțin Fe), **ubiquinone** sau coenzima Q (mici molecule *carrier* neproteice). Ultimul acceptor de electroni în respirația aerobă este O_2 , fiind generate 34 molecule ATP.

În întregul proces de **respirație aerobă** la procariote, dintr-o moleculă de glucoză rezultă 38 molecule ATP: la cele 34 molecule care provin din lanțul transportului de electroni se adaugă cele 4 molecule generate în cursul glicolizei și ciclului Krebs.

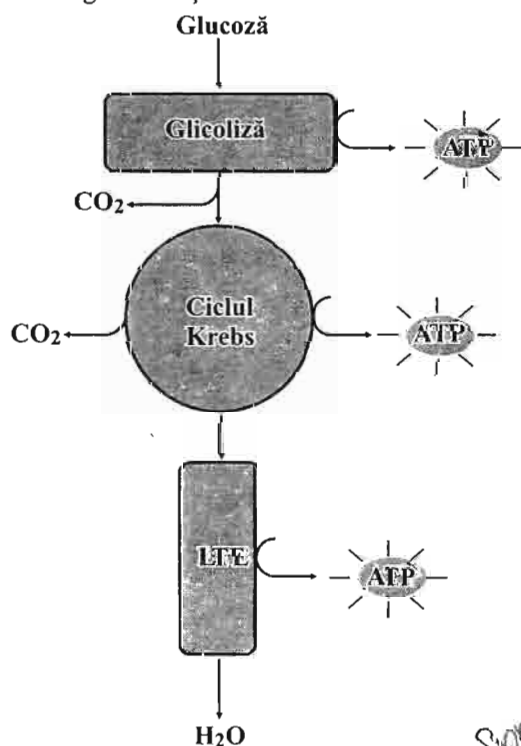


Fig. 3-3 Schema simplificată a catabolismului glucozei prin procesul de respirație (Glicoliza, ciclul Krebs și lanțul transferului de electroni-LTE)

(după Cono R. J. și Colomé J. S.)

Cantitatea de ATP obținută prin **respirația anaerobă** variază; din cauză că numai o parte din ciclul Krebs operează în condiții anaerobe și numai unele din moleculele *carrier* participă la lanțul transportului de electroni, cantitatea de ATP nu va fi niciodată mai mare decât în respirația aerobă.

(2) **Fermentația** permite obținerea energiei prin reacții de oxido-reducere în care atât donatorii cât și acceptorii de electroni sunt compuși organici, compuși intermediari de metabolism fiind acceptori finali de electroni. Prin acest proces acidul piruvic poate fi convertit, în absența oxigenului, la unul sau mai mulți produși care variază în raport de specie: acid lactic, acid acetic, etanol, acid propionic, acid butiric, acetoină etc (fig.3-4). Cantitatea de ATP generată este mică (numai două molecule), o mare parte din energia conținută în glucoză fiind prezentă în legăturile chimice ale produșilor finali de fermentație.

Bacteriile care folosesc exclusiv respirația aerobă se numesc bacterii **strict aerobe**. Bacteriile care folosesc exclusiv procesele fermentative pentru a obține energia se numesc bacterii **strict anaerobe**; pentru acestea O_2 este toxic prin lipsa enzimelor care elimină radicali toxici de oxigen (superoxid-dismutază, catalază, peroxidază). Bacteriile **aero-tolerante** au un metabolism de tip fermentativ dar rămân viabile în prezența O_2 . Majoritatea bacteriilor sunt **facultativ anaerobe**, având posibilitatea de a obține energia atât pe cale oxidativă cât și prin fermentații. Bacteriile **microaerofile** cultivă numai în prezența unor concentrații reduse de O_2 (aprox. 5-

6%); această toleranță limitată este posibil determinată de radicalii superoxizi și peroxizi care sunt produși în concentrații letale în atmosferă aerobă (fig. 3.5).

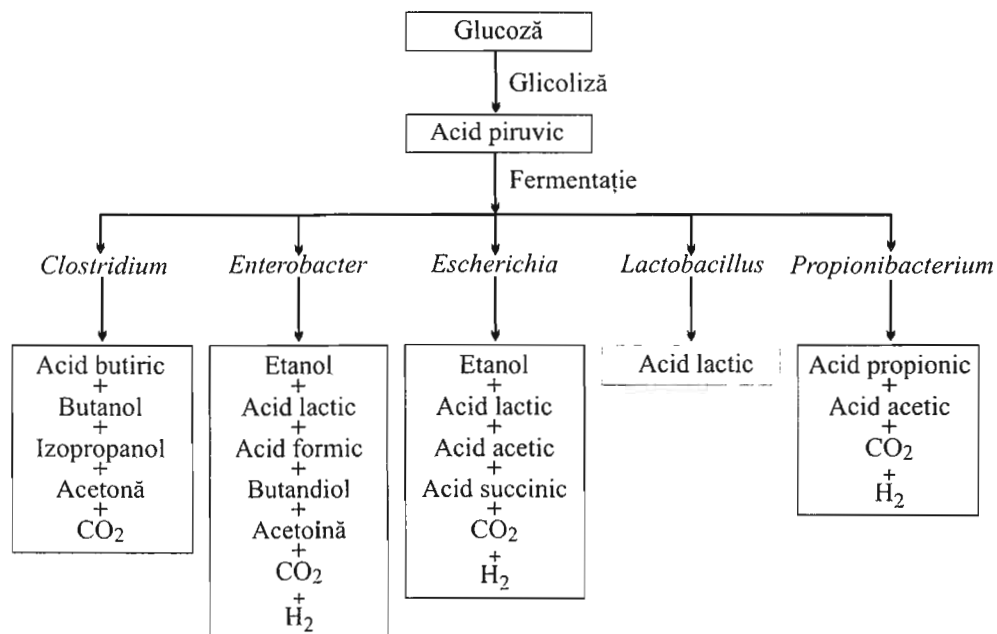


Fig. 3-4 Schema simplificată a catabolismului glucidic prin fermentație la diferite genuri bacteriene (după Cano R. J. și Colomé J. S.)

3.2.1.2. Catabolismul lipidic și proteic. Producerea de energie poate să rezulte și din oxidarea acizilor grași și glicerolului, ca și a acizilor aminați tot prin ciclul Krebs (fig.3-6); în prealabil, acizii aminați necesită a fi convertiți în alți compuși prin dezaminare, decarboxilare sau dehidrogenare.

Profilul unor activități enzimatică din cadrul catabolismului glucidic, proteic sau lipidic este caracteristic pentru anumite unități taxonomice (gen, specie), studierea acestora având o deosebită importanță în identificarea bacteriană. Veți efectua și interpreta asemenea reacții în cadrul lucrărilor practice de bacteriologie.

3.2.2. Anabolismul

Anabolismul bacterian corespunde reacțiilor de biosinteză a unor componente celulare cu consum de energie; spre deosebire de reacțiile catabolice, sunt similare la diferitele specii bacteriene.

(1) **Biosinteza polizaharidelor.** Pentru sinteza glucozei (sau a unui alt carbohidrat simplu) servesc compuși intermediari care rezultă din glicoliză și ciclul Krebs, urmând asamblarea în compuși polizaharidici.

Polimeri de glucoză cum sunt glicogen, amidon, polihidroxibutirat servesc pentru stocarea energiei pe termen lung.

(2) **Biosinteza lipidelor.** Bacteriile sintetizează grăsimi (ce servesc la sinteza fosfolipidelor membranare, a unor componente din structura peretelui celular la bacterii gram-negative sau acido-alcool-rezistente) din glicerol și acizi grași. Glicerolul provine dintr-un

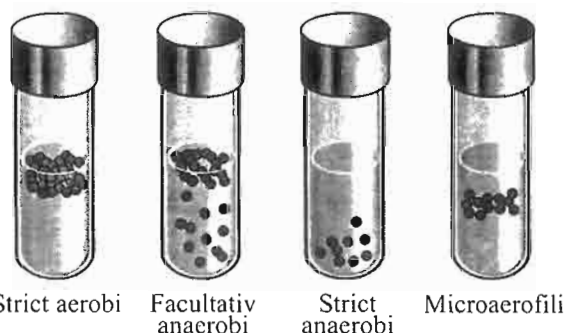


Fig. 3-5 Categoriile de bacterii în raport cu efectul O₂ asupra cultivării

compus intermediar rezultat în cursul glicolizei; acizii grași, care conțin lanțuri lungi de hidrocarbon (hidrogen legat de carbon) sunt sintetizați când două fragmente de acetyl CoA sunt succesiv adăugate.

(3) **Biosinteza acizilor aminați și a proteinelor.** Pentru biosinteza proteinelor (proteine structurale, enzime, toxine) sunt necesari aminoacizi. Unele bacterii (e.g., *E. coli*) posedă enzime ce le permit sinteza tuturor aminoacizilor din compuși intermediari ai catabolismului glucozei, uneori după procese de aminare și transaminare. Alte bacterii necesită prezența în mediu a unor aminoacizi preformați (factori de creștere).

(4) **Biosinteza purinelor și pirimidinelor.** Produși intermediari rezultați din glicoliză și ciclul Krebs participă la biosinteza purinelor și pirimidinelor care servesc la sinteza acizilor nucleici alcătuiți din nucleotide la care participă o pentoză derivată din calea pentoză-fosfat sau Entner-Doudoroff.

3.2.3. Factori de mediu care influențează metabolismul bacterian

Bacteriile necesită nu numai prezența nutrienților în mediul de cultură. Patru factori de mediu influențează desfășurarea reacțiilor metabolice normale la bacterii, fiind necesar să îi oferim când acestea sunt cultivate în laborator: pH, presiune osmotică, temperatură și compoziția în gaze a atmosferei de incubare. Primii doi factori sunt satisfăcuți de mediile de cultură; **incubarea** este procedeul prin care asigurăm temperatura optimă, intervalul de timp necesar menținerii la temperatura respectivă și atmosfera de cultivare.

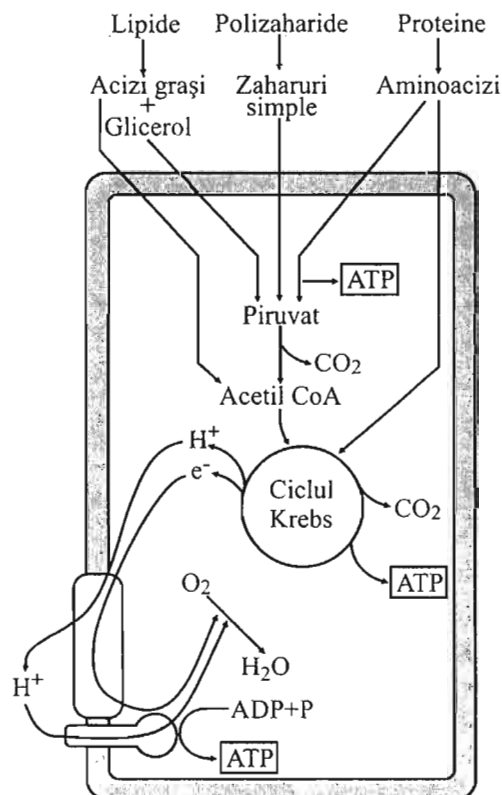


Fig. 3-6 Etapele de bază ale catabolismului compușilor macromoleculari (lipide, glucide, proteine) în cadrul respirației aerobe (după Cano R. J. și Colomé J. S.)

ce participă la metabolismul celular, transportul nutrienților și transferul de electroni. Majoritatea bacteriilor necesită un **pH optim în jur de neutralitate (7-7,5)**. Pentru a tampona compușii acizi rezultați din metabolismul bacterian se includ fosfați în medii; peptone și

Temperatura influențează profund metabolismul și multiplicarea bacteriilor. Bacteriile au enzime și membrane celulare (conținut în acizi grași nesaturați sau saturați) care funcționează cel mai bine la temperaturi optime de dezvoltare cuprinse între anumite limite. În raport de acest criteriu clasificăm bacteriile în trei grupe principale: **psihrofile** (0-20°C); **mezofile** (25-45°C) și **termofile** (50-70°C). Temperatura optimă la majoritatea bacteriilor patogene pentru om este de 37°C; termostatele din laborator în care sunt incubate mediile de cultură după însămânțare sunt reglate la această temperatură. Bacteriile **psihrotrofe** se multiplică mai rapid la temperaturi de 20-30°C, dar sunt capabile să cultive lent la temperatura frigiderului, de exemplu în alimente contaminate conservate prin frig, putând determina toxiiinfecții alimentare. Endosporii bacteriilor termofile sunt deosebit de termorezistenți, de exemplu *Bacillus stearothermophilus*, folosit în controlul microbiologic al metodelor de sterilizare prin căldură umedă.

Valorile pH-ului pot influența structura tridimensională a proteinelor, inclusiv a enzimelor

aminoacizi, în unele medii, au de asemenea efect de tampon. Există însă bacterii **acidofile** care preferă un pH scăzut, 5-5,5 sau mai jos, cum sunt lactobacilii. Altele tolerează sau se dezvoltă la un pH crescut, numite bacterii **bazofile** sau alcalinofile cum sunt cele din genul *Vibrio* care se înmulțesc la un pH optim de 8,5-9, medii cu acest pH fiind folosite în izolarea acestora din produse polimicrobiene.

Presiunea osmotică. Bacteriile patogene cresc preferențial în medii izotone cu mediul intern al organismului gazdă. În medii hipotone peretele celular reușește să limiteze cantitatea de apă ce pătrunde în celulă, dar micoplasmele și bacteriile cu perete modificat (protoplaști, sferoplaști, forme „L”) sunt profund afectate. În medii hipertone bacteriile suferă fenomenul de plasmoliză, pe care se bazează conservarea alimentelor prin saramurare. Sunt bacterii, numite **halofile**, care cultivă în medii cu concentrații crescute de NaCl (peste 2%), acestea fiind întâlnite în apele marine; puține specii patogene pentru om sunt halofile (e.g., *Vibrio parahaemolyticus*).

Atmosfera de incubare. Bacteriile aerobe sau aerob-facultativ anaerobe sunt incubate în condiții obișnuite, în prezența aerului atmosferic. În laboratoare de diagnostic, cutiile Petri cu medii însămânțate pentru cultivarea bacteriilor anaerobe sunt plasate în recipiente transparente, ermetic închise, în care concentrația O_2 scade sub 1% (v/v), fiind înlocuit cu un amestec de H_2 sau un gaz inert și CO_2 (10%) utilizând un generator chimic; atmosfera anaerobă este verificată cu ajutorul unei benzi din hârtie de filtru impregnată cu o soluție de albastru de metil care devine incoloră (fig.3-7). Pentru bacteriile microaerofile se procedează într-un mod asemănător, dar în atmosfera de incubare este asigurată o concentrație de O_2 de aprox. 5%. Pentru bacteriile carboxifile, o metodă simplă o constituie plasarea în recipient a unei lumânări aprinse din ceară de albine care se va stinge când în aerul din incintă CO_2 atinge o concentrație de 3-5% (fig.3-8).

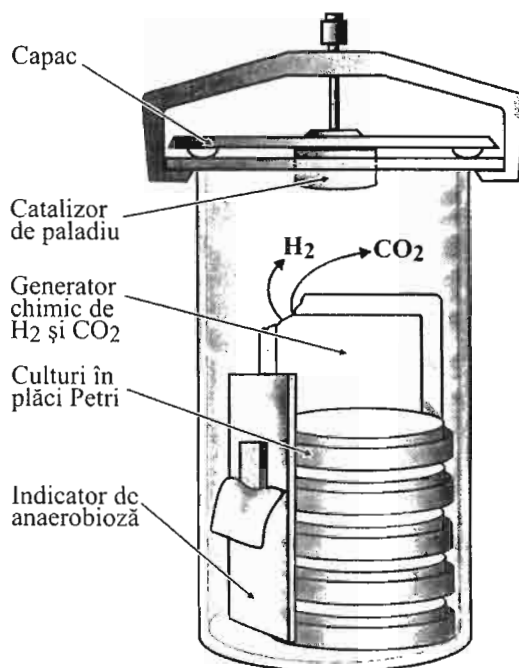


Fig. 3-7 Recipient pentru incubarea în anaerobioză a bacteriilor însămânțate în suprafață

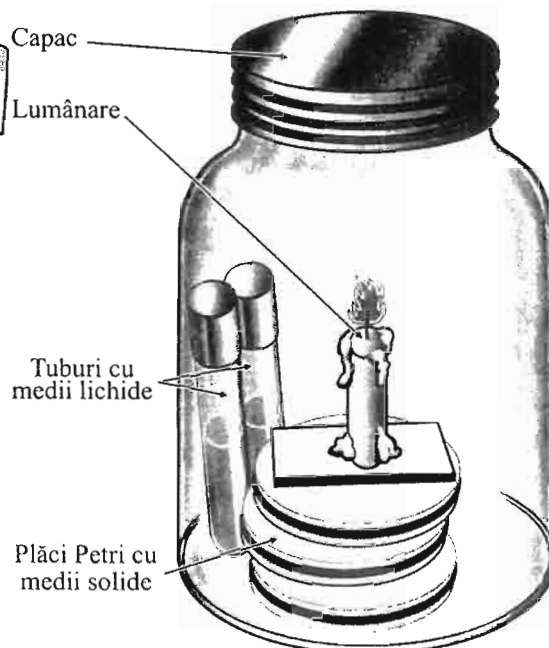


Fig. 3-8 Metodă simplă de incubare în atmosfera CO_2 a culturilor bacteriene

3.3. CREȘTEREA BACTERIILOR

Consecutiv activităților metabolice are loc creșterea volumului celulei bacteriene după o rație cubică și a suprafeței bacteriene după o rație pătrată. Se ajunge la un punct critic ce impune restabilirea raportului optim dintre suprafață și volum care se realizează prin diviziune binară, modalitatea de înmulțire la majoritatea bacteriilor.

În general, prin creșterea celulelor înțelegem sporirea mărimii și masei acestora. Spre deosebire de organismele pluricelulare, bacteriile sunt prea mici pentru a fi studiate individual. Creșterea la bacterii este urmărită la nivel populațional, aceasta referindu-se la creșterea numărului celulelor într-o populație prin diviziune, care se realizează în progresie geometrică cu rația 2: $1^1, 2^2, 2^3, 2^4, \dots, 2^n$, în care $1 \dots n$ este numărul de generații. Prin urmare, când vorbim de creșterea bacteriană ne referim de fapt la numărul de celule și nu la mărimea celulei. Timpul necesar pentru dublarea populației poartă numele de **timp de generație** iar numărul de generații în unitatea de timp poartă numele de **rata de creștere**.

Creșterea bacteriilor poate fi studiată pe medii de cultură, soluții fluide sau gelificate care asigură necesitățile nutritive și fizico-chimice pentru cultivarea bacteriilor. Totalitatea bacteriilor acumulate prin multiplicare o numim **cultură**. O **cultură pură** este constituită din bacterii de același fel și reprezintă etapa indispensabilă identificării și testării sensibilității *in vitro* a acestora față de agenți terapeutici antibacterieni.

3.3.1. Cultivarea și izolarea bacteriilor în cultură pură

Însămânțarea unui produs pluribacterian se realizează prin depunerea unei cantități reduse (inocul) pe suprafața mediului repartizat în plăci Petri, într-un sector limitat; cu ajutorul ansei sterile dispersăm bacteriile prezente în inocul prin realizarea de striuri paralele în 3-4 cadrane (fig.3-9). În primul sector coloniile bacteriene sunt confluente sau semiconfluente, în următoarele cadrane ele apar izolate, din ce în ce mai mult spațiate. Bacterii aparținând unor specii distincte cultivă sub forma unor colonii cu aspect diferit. Din fiecare tip de colonie se realizează un repicaj pe un nou mediu pentru obținerea unei culturi pure.

Alte metode de izolare:

– Izolarea pe medii lichide, indicată numai pentru produsele monobacteriene și în mod deosebit a celor cu un număr redus de bacterii, fiind posibilă izolarea acestora prin creșterea volumului inoculului (însămânțarea câtorva picături până la câțiva ml produs, cu pipeta sau cu seringă). Când urmărim izolarea unor bacterii anaerobe putem folosi medii lichide care conțin substanțe reducătoare (tioglicolat de sodiu, cisteină etc.) repartizate în coloană înaltă, regenerate (prin menținere 15 min în baia de apă la fierbere și apoi răcite brusc) înainte de utilizare;

– Izolarea bacteriilor sporulate dintr-un produs care conține concomitent bacterii nesporulate, bazată pe termorezistența sporilor: suspensia produsului în soluție salină izotonă este încălzită 10 min la 80°C, apoi însămânțată prin epuizare.

3.3.2. Aprecierea cultivării bacteriilor se poate realiza în două moduri: calitativ și cantitativ.

Apreciere calitativă:

- Pe medii lichide, în care se realizează o bună dispersie a celulelor bacteriene, creșterea determină cel mai frecvent o opacifiere a mediului, eventual cu formare de vâl sau depozit. Este posibilă de asemenea aprecierea mai rapidă a cultivării prin evaluarea activităților

metabolice, evidențiind modificarea de pH sau cantificând CO_2 (principiu de funcționare a sistemelor automate pentru hemoculturi);

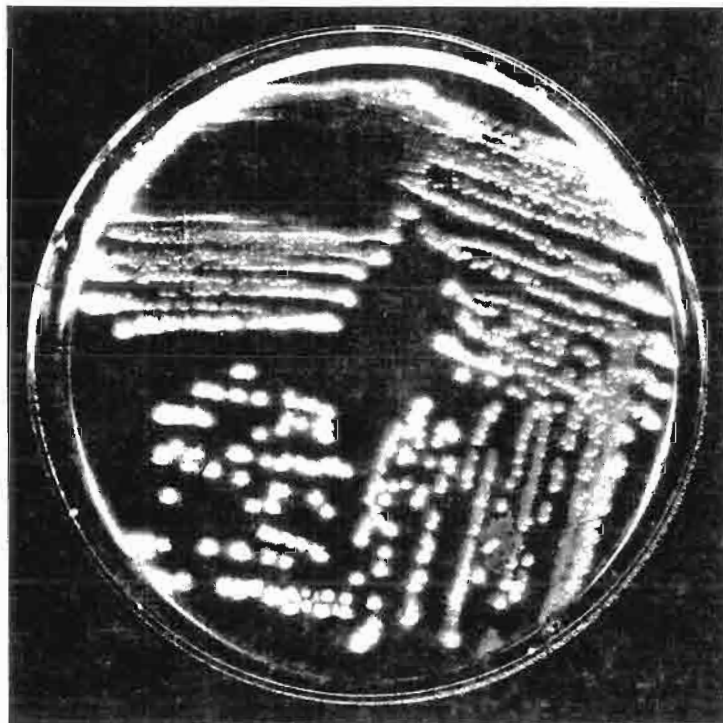


Fig. 3-9 Obținerea de colonii izolate prin metoda epuizării

- Pe medii solide multiplicarea unei celule bacteriene dă naștere unei colonii, vizibilă cu ochiul liber la majoritatea bacteriilor după un interval de 18-24 ore; o colonie provine dintr-o celulă bacteriană sau din bacterii atașate în diplo, lanțuri sau grămezi, respectiv unități formatoare de colonii (UFC). Bacteriile cu încărcătură puternic electronegativă și suprafața hidrofilă (asigurate de structuri de suprafață) cultivă sub formă de colonii S, cu suprafața netedă, lucioasă și contur circular; cele cu încărcătură electronegativă și hidrofilie mai reduse formează colonii R, cu suprafața uscată, rugoasă și margini neregulate. Coloniile bacteriene diferă după dimensiuni (mari, mijlocii sau mici), contur (circular, cu margini lobate, zimțate, dendritice), suprafață (lucioasă sau granulară), transparență (opace, translucide sau transparente), relief (plat, bombat, acuminat, ombilicat), culoare (pigmentate sau nepigmentate), consistență (untoasă, mucoasă, friabilă), aderența la mediu (aderente sau neaderente).

Aprecierea cantitativă, realizată în special pentru bacterii prezente în medii lichide, se bazează pe evaluarea:

- fie a masei bacteriene (celule viabile și celule moarte), măsurând densitatea optică cu ajutorul fotocolorimetrului sau spectrofotometrului, valorile optice citite fiind convertite în concentrații de bacterii cu ajutorul unei curbe de referință;

- fie a numărului de celule bacteriene viabile exprimate în UFC/mL, consecutiv însămânțării pe suprafața unui mediu agarizat a unui volum dintr-o anumită diluție care să permită, pentru o apreciere corectă, dezvoltarea unui număr între 25-250 colonii; rezultatul provine din produsul între numărul de colonii dezvoltate, inversul diluției folosite pentru citire și raportul 1/volumul însămânțat (fig.3-10).

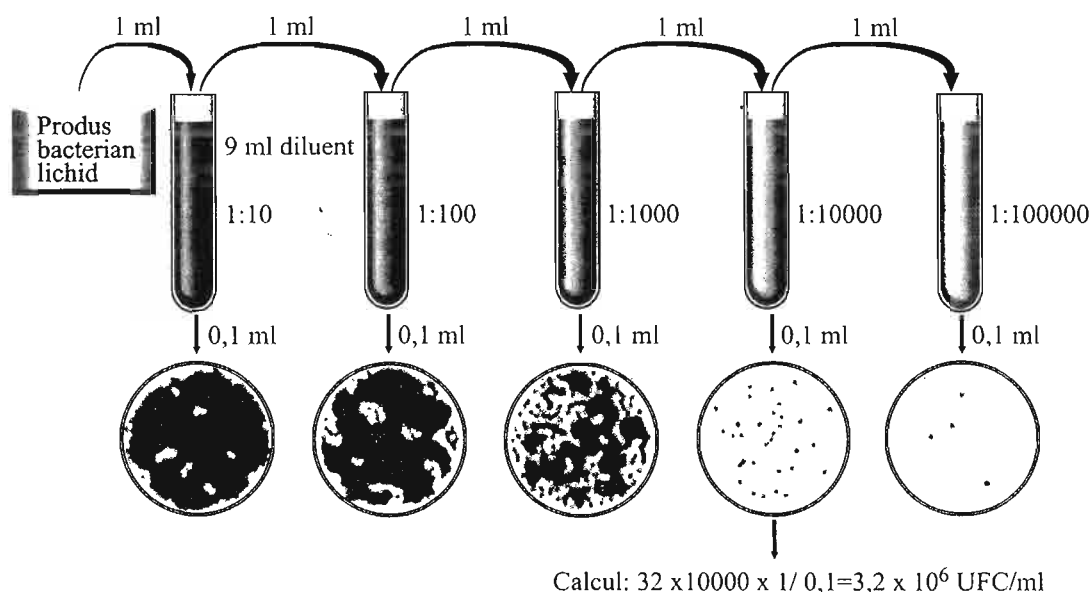


Fig. 3-10 Aprecierea cantitativă a numărului de unități formatoare de colonii/ ml (UFC/ml) prin metoda diluțiilor seriate

3.3.3. Dinamica multiplicării bacteriilor

Curba de creștere a unei culturi bacteriene rezultă din evoluția concentrației bacteriene sau a biomasei în raport de timp. Teoretic, dinamica unei populații bacteriene ar trebui să evolueze exponențial; în culturi discontinue în medii lichide (în volum limitat de mediu), dinamica reală a populației bacteriene se derulează în 4 faze caracteristice: faza de latență, faza exponențială, faza staționară și faza de declin (fig.3-11).

Faza de latență. După însămânțarea unei bacterii pe un mediu de cultură, aceasta nu începe imediat să se multiplice; numărul bacteriilor rămâne staționar sau scade, în schimb celulele bacteriene cresc în dimensiuni, având un metabolism activ de sinteză a enzimelor adaptate noilor condiții. În această fază, sensibilitatea la agenți antibacterieni este crescută.

Durata latenței este în funcție de vârsta bacteriilor însămânțate (mai scurtă pentru bacteriile în plină activitate metabolică, mai lungă în cazul bacteriilor ce provin dintr-o cultură în fază staționară) sau compoziția noului mediu (când este identic sau asemănător cu mediul din care provin bacteriile, faza de latență poate fi foarte scurtă sau absentă).

Faza exponențială sau logaritmică. Celulele bacteriene încep să se dividă cu scurtarea progresivă a timpului de generație, existând o relație liniară între timp și logaritmul numărului de celule. Timpul de generație în faza exponențială, în condiții optime de cultivare este caracteristic pentru o anumită specie bacteriană (e.g., timpul de generație este de 10 min pentru *V. cholerae*, 20 min pentru *E. coli* și de 18-24 ore pentru *M. tuberculosis*). Bacteriile în fază exponențială au citoplasma intens bazofilă, fără incluzii, și au o importantă sensibilitate la acțiunea agenților antibacterieni.

Faza staționară. Faza exponențială durează numai câteva ore; mediul de viață devine din ce în ce mai puțin favorabil, ceea ce determină trecerea în fază staționară; numărul bacteriilor vii rămâne constant: fie prin persistența bacteriilor vii, în absența multiplicării, consecutiv epuizării unui nutrient (factor limitant al creșterii), fie prin stabilirea unui echilibru între numărul de bacterii provenite din multiplicare și numărul celor care mor, consecutiv acumulării de cataboliți toxici sau modificări de pH. În faza staționară bacteriile au

morfologia specifică speciei (dimensiuni, incluzii, endospori), scade în schimb sensibilitatea la agenți antibacterieni.

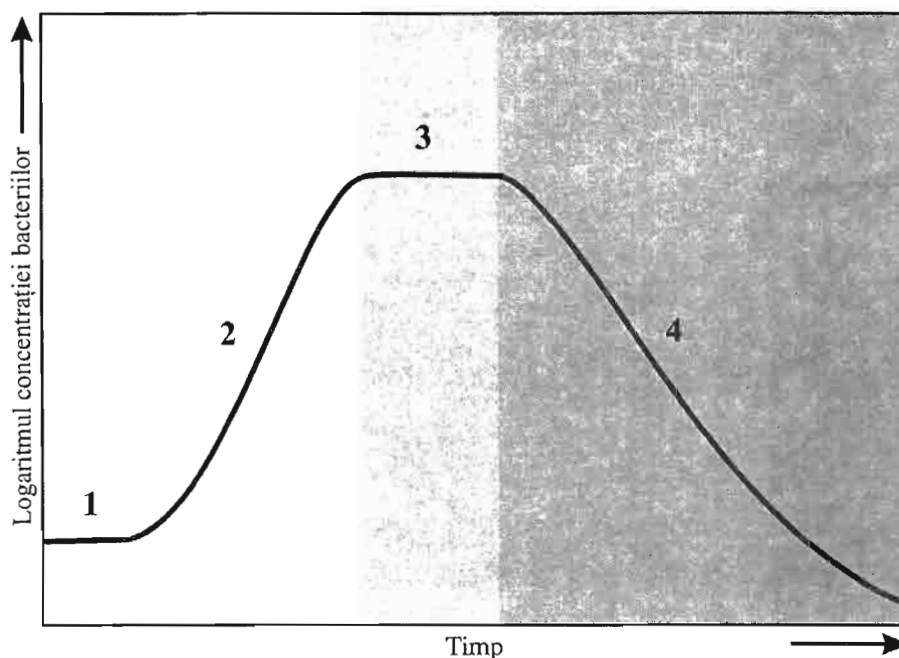


Fig. 3-11 Curba multiplicării bacteriilor în cultura discontinuă pe mediu lichid (1=faza de latență; 2=faza exponențială; 3=faza staționară; 4=faza de declin)

Faza de declin. După o perioadă variabilă în faza staționară (pentru unele bacterii poate dura zile sau săptămâni), bacteriile moarte depășesc progresiv numărul celor vii, până la autosterilizarea culturii; uneori scade numărul total de bacterii datorită unui proces de autoliză. În această fază apar forme aberante, de involuție.

Pe medii solide, coloniile sunt constituite din bacterii în diferite faze de creștere.

În laborator, testarea sensibilității la antibiotice o facem pe culturi în fază logaritmică (culturi în medii lichide, după 4-6 ore de incubare), iar pentru identificarea bacteriilor folosim cultura în fază staționară (în vârstă de 18-24 ore pentru bacteriile cu creștere rapidă).

3.3.4. Utilizarea practică a cultivării bacteriilor

Cultivarea bacteriilor pe medii adecvate o facem:

–În scop de producție, pentru obținerea unor produse de metabolism bacterian (antibiotice, vitamine etc.) sau vaccinuri; apelăm la metode cu randament mare, utilizând cultivarea continuă (menținerea culturii numai în fază exponențială) în vase speciale, turbidostat sau chemostat;

–În scop de diagnostic etiologic al infecțiilor bacteriene, folosind diverse medii repartizate în cantități mici, în eprubete sau plăci Petri;

–Pentru monitorizarea antibioterapiei, prin testarea sensibilității *in vitro* la diverși agenți terapeutici antibacterieni a bacteriilor cu semnificație clinică, folosind medii nutritive care să nu interfereze cu activitatea acestor compuși.

DUMITRU T. BUIUC, DRAGOȘ FLOREA

„Unele lichide virulente, prin care transmitem o boală contagioasă, conțin microbi vizibili, altele nu ne arată nimic. Microscopul nu ne arată tot ce este viu.”

ÉMILE DUCLAUX, 1886

Virusurile sunt particule infecțioase, *virioni*, cu diametrul cuprins între 18 și 300 nm. Au un singur acid nucleic (ADN sau ARN), care constituie *genomul* lor. Acidul nucleic este cuprins într-un înveliș proteic, *capsida*, cu care împreună formează *nucleocapsida* înconjurată, la unele virusuri, de o *anvelopă* cu conținut lipoproteic. Lipsite de orice sistem enzimatic producător de energie și de orice capacități de biosinteză, virusurile nu cresc și nu se divid, ci sunt replicate de către o celulă gazdă pe care o programează să sintetizeze moleculele necesare producerii de virus progen. Virusurile sunt deci paraziți genetici ai celulelor animale, vegetale, fungilor, protozoarelor sau bacteriilor.

Dimensiunea virusurilor poate fi apreciată prin trei metode: electronmicrografie, ultrafiltrare și ultracentrifugare. Observarea pe *electronmicrografii* a extractelor tisulare și secțiunilor ultrafine prin celule infectate este metoda cea mai precisă și mai frecvent folosită. Virionii sunt mășurați prin comparație cu diametrul stafilococilor (1.000 nm) sau al unor molecule de serumalbumină (5 nm), seruglobulină (7 nm), hemocianine (23 nm). *Ultrafiltrarea* prin membrane cu porozitate cunoscută și *ultracentrifugarea* la forțe mai mari decât 100.000 x g sunt metode aproximative pentru că trecerea prin porii filtrului sau rata sedimentării depind nu numai de mărimea virionilor, ci și de alte proprietăți fizice.

4.1. ANATOMIA FUNCȚIONALĂ A VIRUSURILOR

Morfologia și structura virusurilor este studiată prin microscopia electronică a secțiunilor ultrafine sau crio-electronmicroscopie (cu contrastul structurilor accentuat prin colorație negativă sau umbrire cu metale grele) și prin difracția razelor X.

Cunoașterea structurii virale este necesară pentru a înțelege: • interacțiunile virionului cu celula gazdă; • reacția virionului cu anticorpii neutralizanți; • acțiunea chimioterapicelor antivirale utilizate în prezent sau testate în speranța posibilei utilizări.

Nucleocapsida. Genomul viral are dimensiuni reduse: parvovirusurile, cu diametrul lor de 18–26 nm, au genomul format din 5600 nucleotide, practic echivalentul unei singure gene. Economia genetică impune ca virionii să fie formați din molecule identice ale unui număr redus de proteine, posibil chiar una singură. Un minim de unități structurale trebuie să asigure capsida un volum maxim pentru a cuprinde genomul. În raport cu gruparea unităților

structurale, nucleocapsidele sunt de trei tipuri: cu simetrie cubică, cu simetrie helicală și cu structură complexă.

(i) *Simetria cubică*. Aceste nucleocapside sunt *icosaedre*. Icosaedrul – prin cele 20 de fețe în formă de triunghiuri echilaterale, 12 vârfuri, 30 de muchii și cinci axe de simetrie rotațională (fig.4-1) – este cea mai eficientă aranjare a subunităților unui înveliș închis: minimul de material pentru maximum de volum. Pe electronomicrografii capsidale icosaedrice apar formate din *capsomere*, rezultate prin asociere polipeptidică. Numărul capsomerelor variază în funcție de virus, de la 32 la parvovirusuri sau picornavirusuri până la 252 la adenovirusuri. Capsomerele vârfurilor, înconjurate de 5 capsomere identice, sunt numite *pentone* iar capsomerele fețelor și muchiilor, înconjurate de 6 capsomere identice, *hexone* (planșa 4.1,1,2,3). Virusurile cu simetrie cubică apar cu formă sferică. Unele sunt nude, altele au anvelopă. Genomul unora este ADN, al altora ARN.

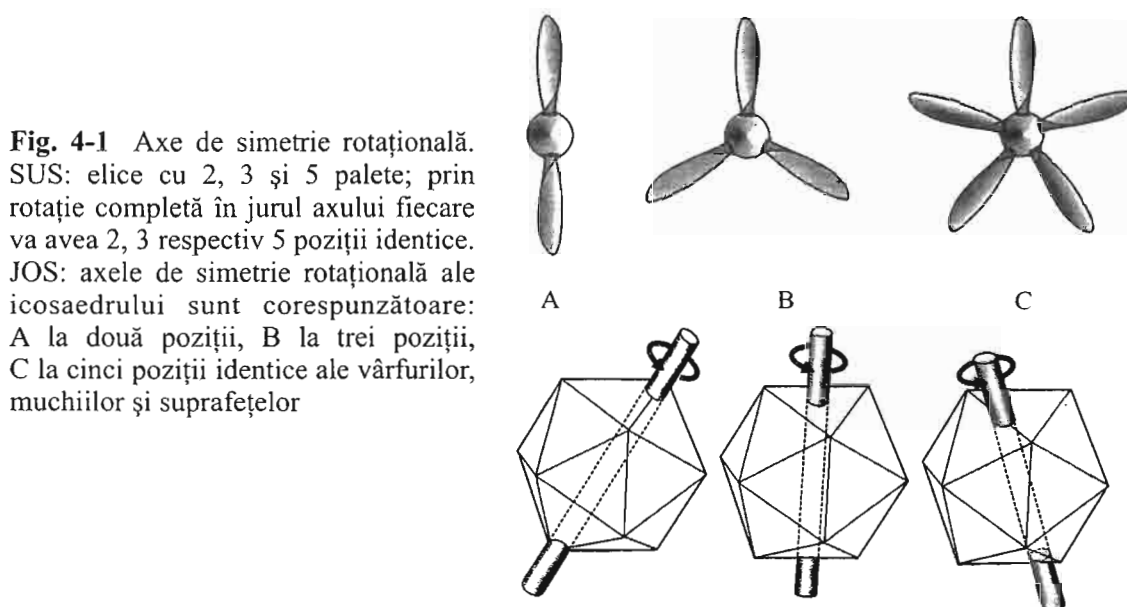


Fig. 4-1 Axe de simetrie rotațională. SUS: elice cu 2, 3 și 5 palete; prin rotație completă în jurul axului fiecare va avea 2, 3 respectiv 5 poziții identice. JOS: axele de simetrie rotațională ale icosaedrului sunt corespunzătoare: A la două poziții, B la trei poziții, C la cinci poziții identice ale vârfurilor, muchiilor și suprafețelor

(ii) *Simetria helicală*. Subunitățile proteice, dispuse regulat, îmbracă molecula de acid nucleic într-o teacă helicală. Toate virusurile animale cu simetrie helicală sunt virusuri ARN cu nucleocapsidă flexibilă închisă într-o anvelopă care le modulează forma în general sferică, dar poate fi și filamentoasă sau de obuz (fig.4-2; planșa 4.1,4).

(iii) *Structură complexă* au poxvirusurile, la care, pe electronomicrografii, identificăm un nucleoid înconjurat cu o membrană fină, flancat de doi corpi laterali, totul înconjurat de o anvelopă lipoproteică formată din tubuli. Poxvirusurile au formă de cărămidă și sunt cele mai mari virusuri animale (planșa 4.1,5,6).

Capsida protejează genomul viral. Capsomere, diferențiate sau nu, funcționează ca liganzi și fixează virionii nuzi pe receptori celulari specifici. Subunitățile structurale ale acestor capsomere sunt antigene care reacționează cu anticorpii neutralizanți.

Anvelopa, prezentă la unele virusuri, derivă din membrana celulei gazdă. În cursul maturării virionii înmuguresc prin membrana în prealabil pregătită prin inserția de glicoproteine virus codificate, care vor proemina ca spiculi pe suprafața anvelopei și au, după caz, funcție de liganzi (e.g., hemaglutinine), mai rar enzime (e.g., neuraminidaza) ori factori

de fuziune ai membranelor citoplasmice. Reacția glicoproteinelor virale cu efectori imunitari neutralizează infecțiozitatea acestor virusuri sau lizează celulele care le replică.

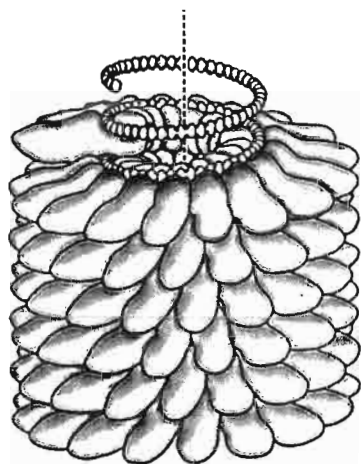


Fig. 4-2 Virus cu simetrie helicală: modelul virusului mozaicului tutunului (după D.L.D. Caspar, 1963; modificat)

Genomul viral, format dintr-un singur acid nucleic, codifică informația necesară replicării virusurilor. Acidul nucleic este ARN sau ADN monocatenar (m.c.) sau dublucatenar (d.c.), linear, circular cu greutate care variază între $1,2-1,8 \cdot 10^6$ daltoni la parvovirusuri, 1-3 gene, și $200 \cdot 10^6$ daltoni la poxvirusuri, 200-300 gene. Genomul virusurilor ADN apare ca o moleculă unică; cel al unor virusuri ARN este divizat în segmente separate: e.g., 10 la reovirusuri, 8 la orthomyxovirusuri. La virusuri cum sunt picornavirusurile, flavivirusurile etc. ARN purificat este infecțios pentru că funcționează direct ca ARNm de unde și denumirea de ARN cu sens pozitiv, abreviat „+”. La altele, ca orthomyxovirusuri, rhabdovirusuri ș.a., ARN purificat nu este infecțios pentru că este complementar ARNm, are sens negativ, abreviat „-”. Virusurile ARN cu genom „-” conțin în nucleocapsidă o ARN polimerază care inițiază replicarea.

4.2. CULTIVAREA VIRUSURILOR ȘI TESTAREA CULTIVĂRII

Virusurile cultivă numai în gazde vii: culturi de celule, embrioni de pasăre, animale de laborator. Condiția este prezența celulelor receptive capabile să replice un anumit virus.

4.2.1. Culturile de celule

Culturile de celule pot fi primare, linii de celule diploide sau permanente. **Culturile primare** le obținem prin dispersia, uzual cu tripsină, a celulelor din țesuturi sau organe proaspăt prelevate. Supraviețuiesc numai 5-6 cicluri de subcultivare. **Linii de celule diploide** sunt obținute din țesuturi embrionare. Au cariotipul normal și pot fi subcultivate 40-50 de generații. **Linii permanente** de celule provin din tumori canceroase sau din mutante apărute în linii celulare diploide și pot fi subcultivate probabil indefinit. Celulele menținute într-un anumit mediu de creștere aderă la suprafața recipientului și formează un film continuu de cultură (planșa 4.2,1). Cultivarea unui virus presupune următoarele operațiuni: pregătirea suspensiei virale, inocularea filmului celular, incubarea, depistarea și cantificarea virusului replicat. **Pregătirea suspensiei virale:** prelevatul patologic este omogenizat pentru eliberarea virionilor; centrifugat diferențiat pentru îndepărtarea resturilor celulare și bacteriilor; tratat cu antibiotice pentru a preveni creșterea bacteriilor și fungilor contaminanți. **Inocularea** filmului celular: pe filmul celular spălat, după îndepărtarea *mediului de cultivare*, este depus inoculul și lăsat un timp pentru adsorbția virionilor, apoi este îndepărtat iar filmul celular este acoperit cu *mediu de întreținere* și **incubat** pentru replicarea virusului. **Depistarea și cantificarea virusului replicat** o facem, după caz, prin:

(1) *Efectul citopatic*. Unele virusuri determină rotunjirea, refringența și desprinderea celulelor de pe suport, ca enterovirusurile (planșa 4.2,2); altele apariția de sinciții, ca herpesvirusurile, paramixovirusurile (planșa 4.3,1). Efectul citopatic permite *cantificarea virusurilor prin metoda plajelor*: Filme ale unei culturi de celule sunt inoculate cu diluții ale suspensiei virale. După adsorbția virusului și îndepărtarea resturilor de inocul, filmul celular

este acoperit cu mediu de întreținere agarizat pentru a preveni răspândirea virusului între celule. Așa apar arii restrânse de infecție, *plaje cu efect citopatic*, care pot fi urmărite cu ochiul liber fiind distincte de restul filmului celular normal. Corespondența dintre o plajă și o particulă virală infectantă survine când suspensionarea este ideală. Dar aceasta nu este atinsă, de aceea cantitatea de virus infectant o măsurăm în *unități formatoare de plaje* (planșa 4.3,2) analoage unităților formatoare de colonii bacteriene.

(2) *Apariția în supernatantul și omogenatul culturii a unor proteine virus codificate*, care sunt antigene și pot fi identificate și cantificate prin reacții cu seruri imune de referință. Unele dintre aceste proteine au efect biologic definit, ca hemaglutininele virusurilor gripale, arbovirusurilor ș.a., pe baza căruia pot fi cantificate prin diluții succesive până când acest efect dispare.

(3) *Adsorbția eritrocitelor* pe membrana modificată a celulelor care au replicat virus (planșa 4.4,3) poate fi mai precoce decât efectul citopatic iar uneori apare în absența unui efect citopatic.

(4) *Incluziunile virale* sunt acumulări paracristaline de virioni ori componente virale în aria celulară de replicare și asamblare a unor virusuri (citoplasmă, nucleu). Le urmărim prin colorații cu hematoxin-eozină, Giemsa ori colorații speciale (planșa 4.4,1,2).

(5) *Interferența virală*. Virusul rubeolei, unele adenovirusuri cultivă fără efect citopatic. Replicarea lor o depistăm indirect prin incapacitatea celulelor infectate de a replica un virus cunoscut citopatogen (e.g., virus Echo).

(6) *Transformarea celulelor normale în celule canceroase* printr-un virus oncogen (e.g., virusul sarcomului Rous). Celulele transformate pierd inhibiția de contact și se aglomerează în focare distincte. Uneori apar anomalii cromosomale (e.g., translocări, inversii, deleții) ca în infecțiile cu virusuri ale leucemiei umane.

4.2.2. Embrionii de găină

Celulele embrionilor și membranelor embrionare replică virusuri sau permit cultivarea rickettsiilor și chlamidiilor. Inoculăm embrioni în vârstă de 6-14 zile pe membrana chorioalantoidă (virusuri herpetice, poxvirusuri), în cavitatea amniotică sau alantoidiană (orthomyxo- și paramyxovirusuri) ori în sacul vitelin (rickettsii, chlamidii) (fig.4-3). Embrionii inoculați sunt incubați la 35°C timp de 3-5 zile. Viabilitatea embrionilor este verificată la ovoscop, în cameră obscură, înainte de inoculare și pe parcursul incubării. Umorele și țesuturile embrionilor infectați trebuie prelevate după refrigerare peste noapte la 4°C (fig.4-3). *Refrigerarea evită hemoragia în cursul prelevării. Hematiile adsorb virus, se aglutinează și denaturează rezultatele* (e.g., la izolarea și cantificarea virusului gripal). Creșterea virusurilor poate determina moartea embrionului, apariția de pustule (*pocks*) pe membrana chorioalantoidă sau acumulare de hemaglutinine în lichidul amniotic ori alantoidian.

Cantificarea virusului replicat în embrionii de găină o facem prin titrarea hemaglutininei în fluidul amniotic sau alantoidian.

4.2.3. Animalele de laborator

Folosim animalele de laborator numai când receptivitatea celorlalte gazde este nesatisfăcătoare (e.g., cazul arbovirusurilor). Replicarea virusului o urmărim prin: • Apariția bolii cu semne particulare și eventual deces; • Apariția virusului în organele țintă (organe bogate în celule receptive la virusul inoculat) atestată de activitatea hemaglutinantă ori

Virusuri

infecțiozitatea omogenatelor sau de examene histopatologice care pot depista leziuni inflamatorii, degenerative ori, mai ales, incluziuni virale, uneori caracteristice cum sunt corpusculii Babeș-Negri din neuronii infectați cu virus rabic.

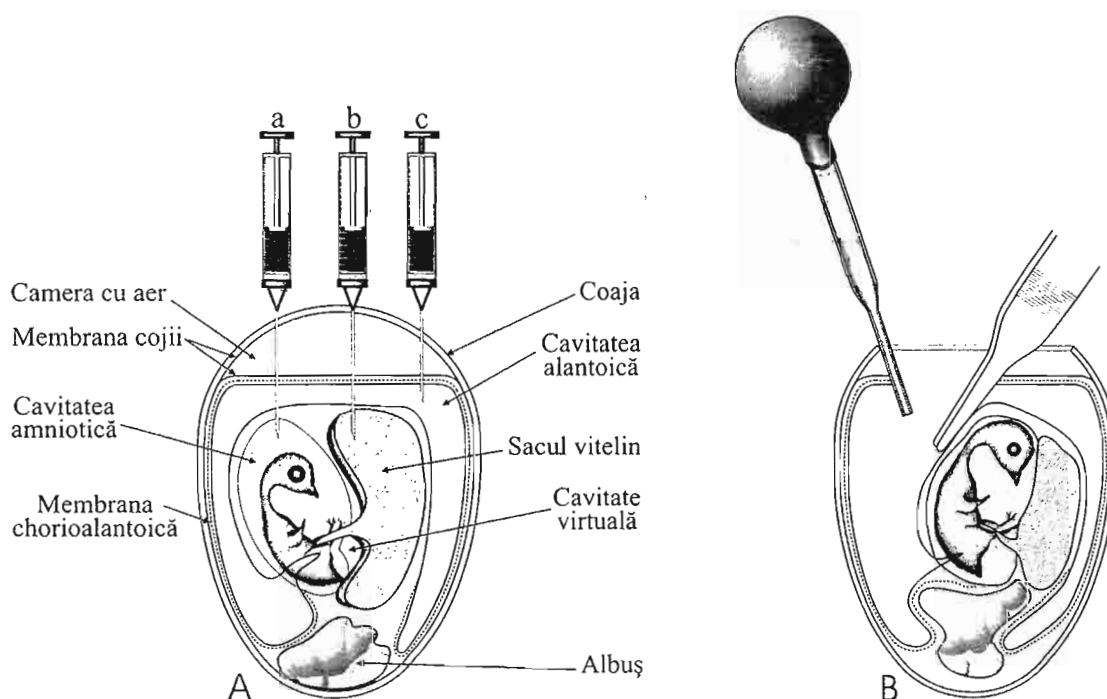


Fig. 4-3 Cultivarea virusurilor în oul embrionat. A căi de inoculare. Vârsta optimă de inoculare este de 5 zile în sacul vitelin, 10 zile în cavitata amniotică sau alantoică, 11-12 zile pe membrana chorioalantoică. B prelevarea lichidului alantoic.

4.3. REPLICAREA VIRUSURILOR ANIMALE

„Ce sameni tu, nu înviază, dacă nu moare mai întâi.
Și când sameni, sameni nu trupul care va fi, ci doar un
grăunte, cum se întâmplă: fie de grâu, fie de altă
sămânță.”

Corinteni I (15:36-37)

Virusurile sunt replicate de celule vii. *Gazda celulară* asigură aparatul energogen și de biosinteză ca și precursorii cu greutate moleculară mică necesari sintezei acidului nucleic și proteinelor virale. *Genomul viral* codifică toate macromoleculele virusului, structurale sau numai cu rol funcțional în etape ale replicării.

Caracteristică virusurilor este dispariția infecțiozității din momentul decapsidării virionului pătruns în celulă până în momentul apariției virionilor progeni. Acest interval din replicarea virusurilor îl numim **perioadă de eclipsă**. Genomul viral „pirat” redirectionează total sau numai parțial biosinteza celulară către necesitățile replicative ale virusului.

Etapele generale ale replicării virale sunt: adsorbția și penetrarea virionilor în celulă, decapsidarea cu eliberarea intracelulară a genomului viral, sinteza componentelor virale, replicarea genomului, morfogeneza și eliberarea virusului progen infecțios (fig.4-4).

(1) **Adsorbția** rezultă din interacțiunea liganzilor cu receptori celulari specifici. Specificitatea de receptor explică tropismul celular, tisular și de organ al unor virusuri: virusul

poliomielitei se fixează pe receptori de pe enterocite și neuronii sistemului nervos central, virusul rabic pe receptori pentru acetilcolină, virusul mononucleozei infecțioase pe receptori limfocitelor B pentru C₃, virusul gripal pe glicoproteine care conțin acid sialic (planșa 4.4,4).

(2) **Penetrarea** virionilor în celula gazdă este diferită:

- Virusurile nude, și numai uneori cele cu anvelopă, penetrează prin pinocitoză receptor dependentă cu includerea virionilor în endosomi.
- La virusurile învelite fuziunea anvelopei cu membrana citoplasmică eliberează nucleocapsida direct în citoplasmă.

(3) **Decapsidarea** are loc sub acțiunea enzimelor lizosomale sau direct în citoplasmă. Genomul viral, antrenat spre locul de replicare, devine accesibil enzimelor care execută transcrierea mesajului genetic în ARNm și replicarea genomului. Virusurile ARN sunt replicate în citoplasmă cu excepția virusului gripal, care are o parte din ciclul replicativ în nucleu. Virusurile ADN sunt replicate în nucleu cu excepția poxvirusurilor al căror genom funcționează și este replicat în citoplasmă.

Disoluția elementului infecțios ca etapă preliminară a înmulțirii singularizează virusurile între agenții infecțioși.

Deși celulele receptive exprimă pe membrana citoplasmică cel puțin 100.000 receptori pentru virus, primele trei etape ale ciclului replicativ sunt relativ ineficiente pentru că: virionii se pot adsorbi pe suprafețe prin care penetrarea este imposibilă, nucleocapsidele nu pot părăsi uneori endosomii, genome virale sunt atacate de nucleaze. De aceea raportul între numărul virionilor adsorbiți și al celor efectiv replicați este subunitar.

(4) **Sinteza componentelor virale** include replicarea genomului viral, sinteza ARNm și sintezele proteice.

Replicarea genomului și transcrierea informației genetice în ARNm sunt controlate de polimeraze ale celulei gazdă sau de polimeraze incluse în nucleocapsidă. Strategia transcrierii diferă cu tipul genomului viral. Traducerea ARNm o execută celula gazdă cu propriile sisteme de sinteză proteică.

- La *Picornaviridae* și *Flaviviridae* genomul ARN m.c. are polaritate pozitivă și este bifuncțional: ARNm și matriță pentru sinteza catenei complementare negative, care, la rândul ei, este matriță pentru sinteza catenelor progene cu sens pozitiv (fig.4-5). Din acest grup numai familia *Togaviridae* sintetizează două forme de ARNm: unul cu lungime egală cu ARN genomic, care codifică proteine structurale și nonstructurale, altul corespunzător treimii 3' a genomului, care codifică numai proteine structurale.

- Virusurile cu ARN m.c. și polaritate negativă au asociată genomului o ARN polimerază care asigură, direct în citoplasmă, replicarea ARN genomic asociat cu o nucleoproteină și sinteza ARNm complet liber (fig.4-6). Între aceste virusuri unele au genomul format dintr-o singură moleculă (*Paramyxoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Filoviridae*), altele au genom segmentat (*Orthomyxoviridae*, *Bunyaviridae*, *Arenaviridae*). Replicarea și transcrierea ARN la toate virusurile cu genom segmentat și polaritate negativă are loc în nucleul celulei gazdă pentru că reacțiile sunt inițiate de primeri proveniți din extremitatea 5' a ARNm celular ori precursori ai acestuia și legați la extremitatea 5' a ARNm viral.

- Virusurile cu ARN d.c. (*Reoviridae*) au și ele asociată genomului o ARN polimerază care transcrie catena cu polaritate negativă în ARNm (fig.4-7).

- La *Retroviridae* genomul ARN m.c. cu polaritate pozitivă are asociată o reverstranscriptază (transcriptază inversă), care transcrie ARN viral în ADN intermediar m.c. cu polaritate negativă. Pe această matriță o ADN polimerază celulară formează ADN d.c. proviral care se înscrie în genomul celulei gazdă. În fine, o ARN polimerază celulară transcrie

Virusuri

catena ADN cu polaritate negativă în ARN m.c. cu polaritate pozitivă care funcționează atât ca ARNm, cât și ca genom viral (fig.4-8). Deci retrovirusurile au două genoame: unul ARN m.c. cu polaritate pozitivă al virusului infecțios și altul ADN d.c. al provirusului.

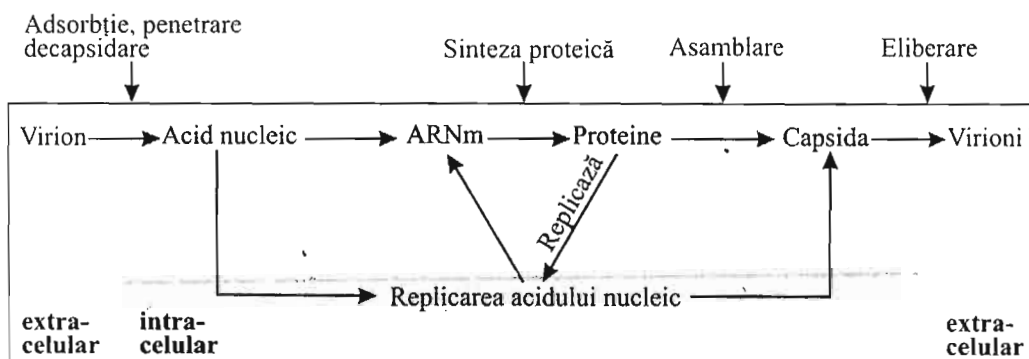


Fig. 4-4 Replicarea virală, schemă

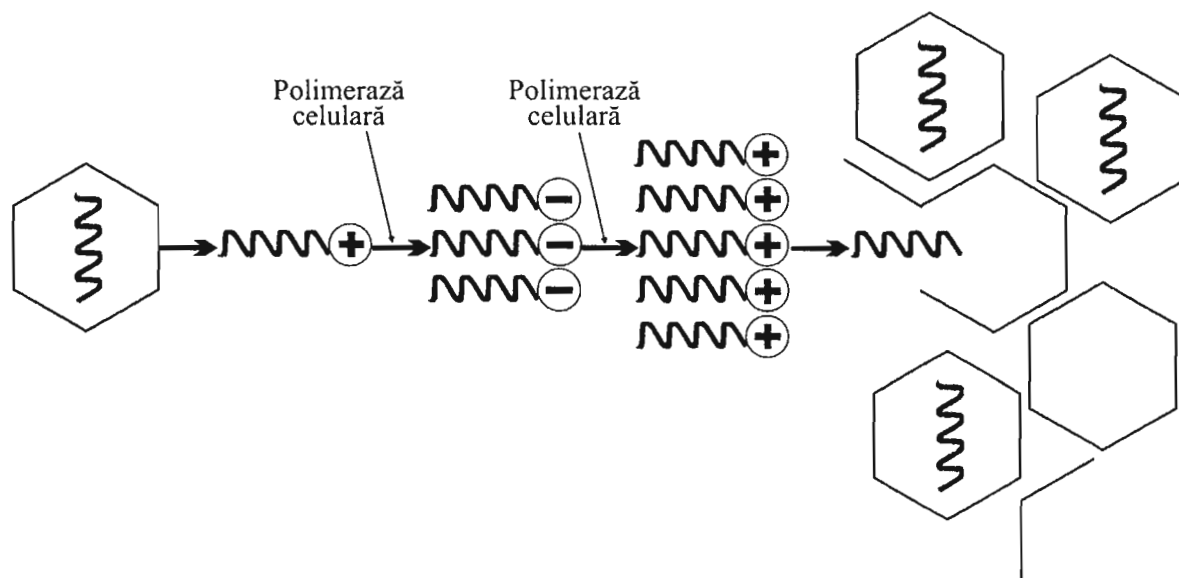


Fig. 4-5 Replicarea unui virus ARN m.c. cu polaritate pozitivă, schemă

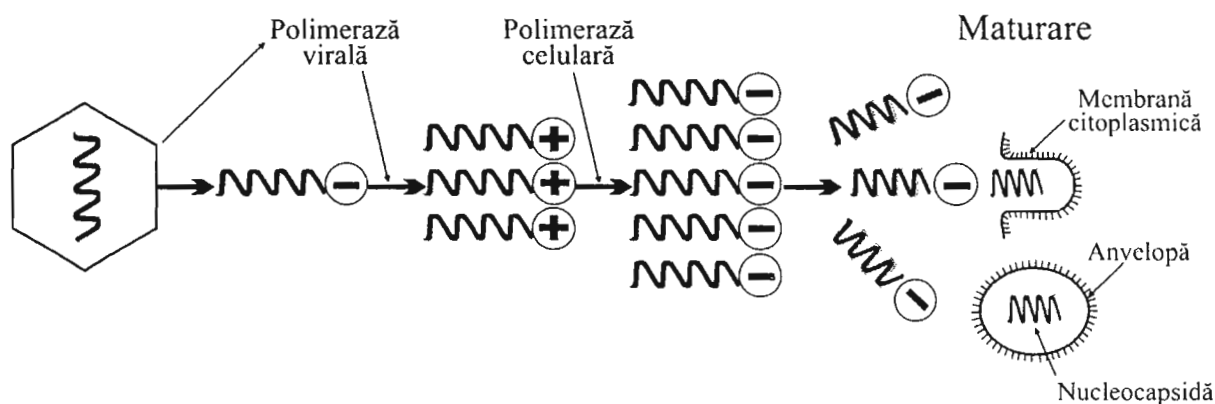


Fig. 4-6 Replicarea unui virus ARN m.c. cu polaritate negativă, schemă

• La majoritatea virusurilor cu ADN d.c. (*Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Papovaviridae*) replicarea genomului și transcrierea în ARNm este realizată intranuclear de

către enzimele celulare. Numai la *Poxviridae* aceste etape se desfășoară în citoplasmă sub controlul ADN și ARN polimerazelor virale.

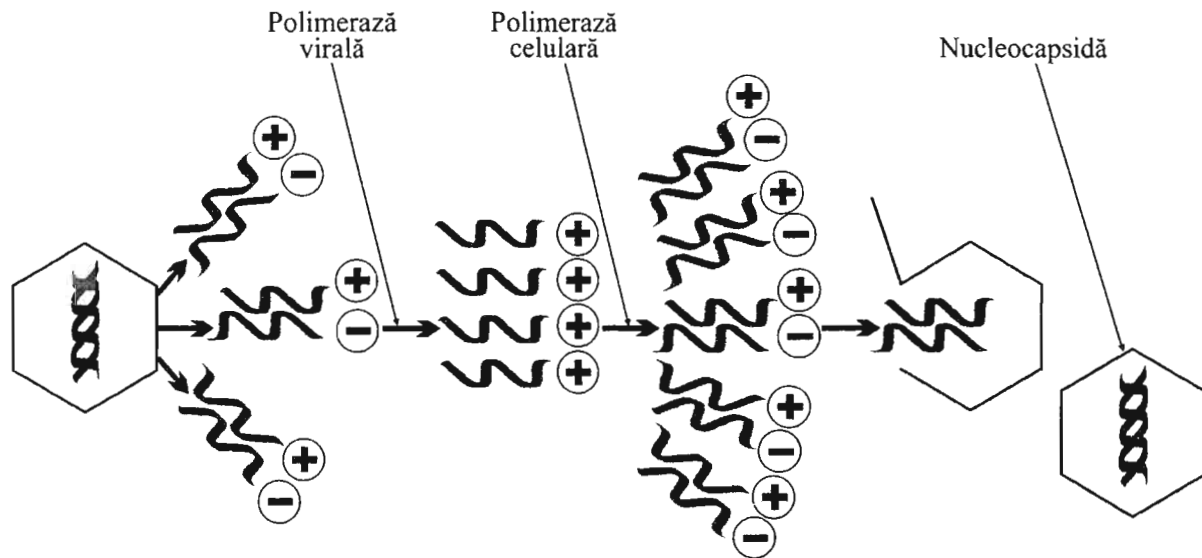


Fig. 4-7 Replicarea unui virus ARN d.c., schemă

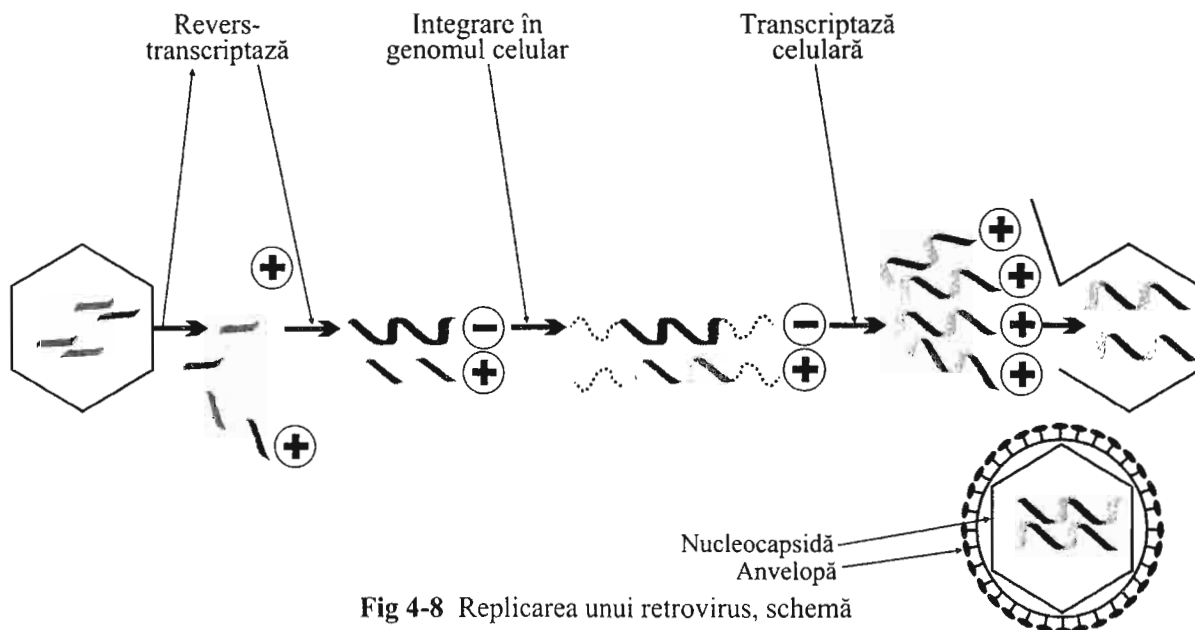


Fig 4-8 Replicarea unui retrovirus, schemă

- La *Hepadnaviridae* ADN este parțial dublu catenar. O ADN polimerază asociată virionului completează dublul helix molecular încă în citoplasmă înainte ca genomul să ajungă în nucleu unde este transcris de o transcriptază celulară.

- Genomul ADN m.c. al parvovirusurilor trece direct în nucleu unde este convertit în molecule d.c. și transcris în ARNm de enzime celulare.

Sinteza proteică are două etape: una începe imediat după infectarea celulei și este numită, ca atare, *sinteză timpurie*. Cealaltă începe după replicarea genomului viral și este numită *sinteză tardivă*.

Proteinele timpurii funcționează ca enzime implicate în sinteza ADN sau ARN viral, inhibă sintezele proprii celulei gazdă, participă la formarea incluziunilor virale. Sunt deci proteine nonstructurale de control al replicării.

Proteinele tardive sunt proteine structurale. În cursul sintezei tardive genele precoc pot fi represate.

Posibil, la toate virusurile ARN întreaga informație genetică este tradusă simultan. Etapizarea sintezei proteice, întâlnită la multe virusuri, este mai importantă la virusurile cu ADN d.c.

Economia genetică impune ca proteinele unor virusuri (*Picornaviridae*, *Parvoviridae*, *Retroviridae*) să fie sintetizate ca precursori poliproteici ulterior clivați în proteine structurale.

Marile virusuri ADN (*Herpesviridae*, *Poxviridae*) au un echipament enzimatic propriu de control al replicării, independent de cel al celulei gazdă. De aceea contra acestor virusuri avem chimioterapice cu acțiune mai selectivă (☞ Subcapitolul 7.3).

(5) **Morfogeneza.** Genomele virale progene, polipeptidele capsidale ori subunitățile structurale se asociază printr-un proces fizico-chimic pentru a forma virus progen. În cursul morfogenezei se pot asambla capside icosaedrice goale, lipsite de acid nucleic (exces de proteine structurale). Morfogeneza virusurilor cu simetrie helicală nu generează niciodată teci lipsite de acid nucleic.

Componentele virale acumulate în exces pot genera incluziuni celulare virale (planșa 4.4,1,2).

(6) **Eliberarea virionilor** nu se face prin liza celulei gazdă. Virusurile învelite se maturează înmugurind prin membranele celulare în zone unde s-au inserat glicoproteine virale: membrana citoplasmică la majoritatea virusurilor cu anvelopă, (planșa 4.4,5), membrana nucleară la *Herpesviridae* (planșa 4.4,6), membrana reticulului endoplasmic sau cea golgiană la *Coronaviridae*.

4.4. RELAȚIILE VIRUS – CELULĂ GAZDĂ

Studiul relațiilor virus–celulă gazdă *in vitro* (în culturi de celule) explică multe aspecte ale relațiilor virus–gazdă *in vivo* (în organismul gazdă). Capacitatea de a replica virus împarte celulele într-un spectru larg care merge de la celulele permissive la cele total nepermissive. *Celula permisivă* realizează integral toate etapele ciclului replicativ viral de la adsorbția până la eliberarea de virioni progeni infectanți în zeci și sute de copii. *Celulele semipermissive* replică numai cantități mici de virus. *Infecția virală a celulelor permissive și semipermissive este o infecție productivă. Infecția celulelor nonpermissive, cele care adsorb, endocitează și replică genomul viral numai până la un anumit stadiu fără maturare și eliberare de virioni progeni, este o infecție nonproductivă.*

Caracterul permisiv *versus* nepermisiv al celulelor este condiționat prin prezența factorilor celulari de inițiere a replicării genomului viral, care recunosc secvențe nucleotidice specifice din promotorii virali. Factorii de inițiere a replicării unui virus sunt genetic determinați sau apar în cursul diferențierii celulelor.

Controlul genetic al permisivității. (1) *Factorul gazdă:* celulele epiteliale umane sunt permissive pentru mai multe tipuri de adenovirusuri umane. Fibroblaștii umani sunt numai semipermisivi. Celulele multor animale (e.g., hamsteri nou-născuți) sunt nepermissive și sunt infectate nonproductiv de tipurile 12, 18, 31 ale acestor adenovirusuri. (2) *Factorul virus:* o celulă devine nonpermisivă față de mutante defective ale unui virus.

Evoluția permisivității în cursul diferențierii celulare. Epiteliile pavimentoase stratificate sunt receptive la infecția cu papilomavirus. Celulele bazale sunt nepermissive. Ele

găzduiesc ADN viral într-un număr redus de copii și, pentru că infecția este neproductivă, generează o clonă cu extindere laterală și diferențiere întârziată. Celulele stratului spinocelular replică ADN viral și exprimă numai genele precoc. Doar celulele stratului granular și cornos realizează integral sinteza proteinelor capsidale cu morfogeneza de virioni infectanți (fig.4-9).

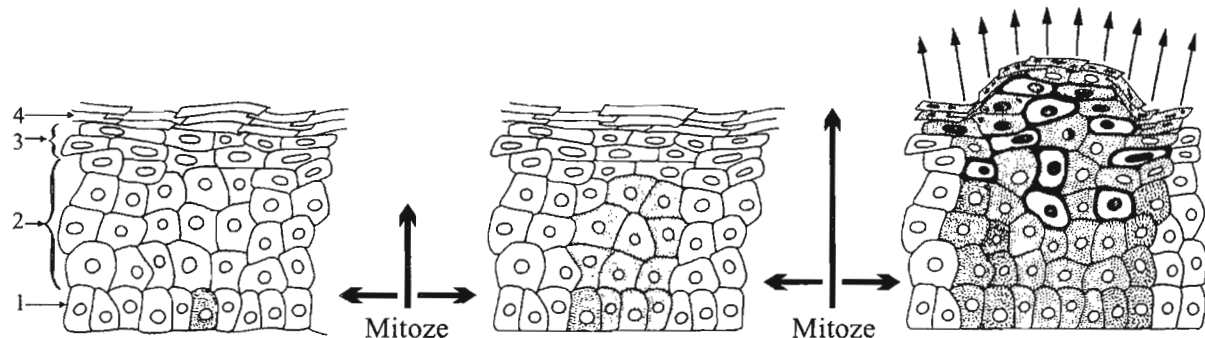


Fig. 4-9 Evoluția permisivității față de papilomavirus a celulelor epidermei (după Hausen și de Villiers, 1994)

4.4.1. Infecțiile productive

Infecțiile productive pot fi: citocide, nonletale transformante și nonletale persistente.

Infecțiile citocide evoluează când virusul aduce într-o celulă permisivă informația genetică integrală. Aceste virusuri determină infecții acute, manifeste clinic sau inaparente (e.g., enteroviroze, gripa, rujeola).

Infecții productive nonletale transformante determină atât virusuri ARN, cât și ADN. Oncornavirusurile sunt retrovirusuri care înmuguresc prin membrana citoplasmică fără efect citocid, dar integrarea ADN proviral în genomul celulei gazdă are efect transformant. Celulele de găină infectate cu virusul sarcomului Rous se malignizează și produc virus. Papilomavirusul determină veruci, condiloma acuminata (tumori benigne), cancere de col uterin ori anogenitale ale căror celule produc virus. Virusul hepatitei B determină infecții cronice productive care, după mai mulți ani, se complică cu carcinom hepatocelular.

Infecțiile productive persistente. Virusul choriomeningitei limfocitare infectează persistent productiv celulele șoarecilor. Copiii cu sindrom rubeolic congenital replică virusul 1-2 ani după naștere fără efect citopatic (*steady state*) și îl elimină prin urină, secreții orofaringiene, fecale. Adenovirusuri care infectează fibroblaștii țesutului adenoid, celule semipermissive, sunt replicate persistent și neregulat fără alte efecte asupra celulei gazdă (*carrier cells*). Cultivarea și subcultivarea țesutului amigdalian excizat chirurgical, pe măsura eliminării anticorpilor, poate izola virus cu o frecvență a celulelor infectate de cca. 10^{-6} . În condiții de imunosupresie (SIDA, primitorii de transplant renal, medular) infecția endogenă cu adenovirus se poate reactiva.

4.4.2. Infecțiile nonproductive

Infecțiile nonproductive pot fi letale, abortive, integrate latente, lente sau transformante.

Infecțiile letale. Virusul vaccinei, când infectează celulele ovariene ale hamsterului de China, determină prompt răspuns celular apoptotic în absența oricărei replicări cu producere de virus progen.

Infecțiile abortive. Mutante defective ale virusului rujeolic infectează persistent neuronii cerebrali fără a putea fi replicate. Neuronii exprimă doar glicoproteine virale pe membrana citoplasmică și devin astfel ținte pentru efectorii imunitari în reacții citolitice-citotoxice (☞ Subcapitolul 6.3.1.).

Infecții latente. Herpesvirusurile își integrează genomul lor ADN d.c. în genomul anumitor celule pe care le infectează latent: neuronii din ganglionii nervului trigemen sau spinali (virusul herpes simplex sau varicela-zoster), limfocitele T (virusul citomegalic), limfocitele B și epiteliul faringian (virusul Epstein-Barr). Ocazional, în condiții de imunosupresie sau necunoscute încă, aceste infecții se pot reactiva.

Infecții lente. În infecția cu virusul imunodeficienței umane, un retrovirus, genomul ADN proviral se integrează în genomul limfocitelor T ori macrofagelor. Boala apare după o lungă perioadă de incubare.

Infecții transformante. Poliomavirusurile umane BK și JC pot fi exemple. Virusul BK transformă malign culturile de celule amniotice umane și determină tumori maligne după inoculare la hamsteri nou născuți. Infecția primară naturală cu virusurile BK și JC evoluează inaparent. Până la 80% din populația normală are încă din copilărie anticorpi anti-BK/JC neutralizanți. ADN viral BK/JC persistent a fost detectat prin amplificare genică în creierul uman și leucocitele sângelui periferic. Reactivarea infecției se produce la imunosupresați (pentru primire de transplant, pentru terapia tumorilor maligne etc.). Dar virusul BK a fost izolat și din urina a 3% din gravide în ultimul trimestru de sarcină. Oncogenitatea la om a infecțiilor persistente cu virusurile BK și JC este încă în studiu.

4.5. TAXONOMIE VIRALĂ

4.5.1. Clasificarea și numirea virusurilor

Clasificarea logică, actuală, a virusurilor are la bază următoarele criterii:

(1) Proprietățile genomului: ARN sau ADN; greutatea; mono- sau bicatenar; linear ori circular; numărul de segmente; sensul transcrierii (polaritatea); secvența nucleotidelor.

(2) Replicarea: locul și strategia replicării genomului, morfogeneza, și eliberarea virionilor progeneri.

(3) Proprietățile virionului: dimensiuni și morfologie, simetria nucleocapsidei, număr de capsomere, prezența sau absența anvelopei.

(4) Sensibilitatea la agenți fizici și chimici, mai ales la eter și la un anumit pH.

(5) Proprietățile proteinelor virale: număr, greutate moleculară, funcții, inclusiv enzimele (în particular polimerazele ADN sau ARN implicate în replicarea genomului și neuraminidaza implicată în eliberarea unor virioni din celula gazdă).

(6) Structura antigenică.

(7) Tropismul celular, tisular și de gazdă.

Numele științifice ale taxonilor virali sunt latinizate prin sufixele: *-viridae* pentru familii; *-virinae* pentru subfamilii; *-virus* pentru genuri.

Principalele caractere ale celor 19 familii virale cu interes medical sunt prezentate în tabelul 4-1.

Deși, curent, în virologia medicală numim virusurile după boala determinată (e.g., virus gripal, virus rujeolic), poarta de intrare a infecției (e.g., enterovirusuri), modul de transmitere (e.g., arbovirus—sigla de la *Arthropode borne viruses*), aceasta corespunde unei clasificări pragmatice și nu științifice.

4.5.2. Identificarea virusurilor

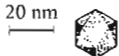
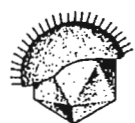
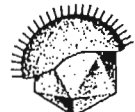
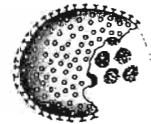
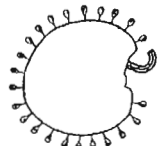
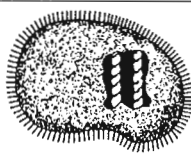
Purificarea virionilor. Studiem suspensii virale obținute din omogenate tisulare, umori, culturi de celule. Identificarea corectă impune studiul unei suspensii virale purificate, debarasată de materialele din celula gazdă. Începem prin *concentrarea virusului* pornind de la volume cât mai mari de suspensie. Uzuală este concentrarea virusurilor prin precipitare cu sulfat de amoniu, etanol, polietilenglicol. Virusurile gripale pot fi purificate prin hemaglutinare și eluție de pe hematii sub acțiunea hemaglutininei respectiv neuraminidazei acestui virus. Purificarea presupune mai multe cicluri începând cu centrifugarea diferențială care îndepărtează, prin sedimentare, resturile celulare. Suspensia este apoi concentrată prin ultracentrifugare ori ultracentrifugări în gradient de densitate de clorură de cesiu, citrat de potasiu sau zaharoză urmate de cromatografie în coloană de fosfoceluloză sau dietilaminoetil cu eluarea virusului prin soluții cu anumită salinitate și pH. Virusurile nude sunt mai ușor de purificat decât cele cu anvelopă pentru că acestea din urmă sunt heterogene ca dimensiuni și densități și au asociat mai mult material celular. O anumită cantitate de material celular este copurificată împreună cu virionii încât puritatea ideală este greu obținută. Criterii minimale de puritate sunt: aspectul omogen al suspensiei pe electronomicrografii sau cel mai avansat ciclu de îndepărtare a contaminanților fără reducerea infecțiozității.

Identificarea. Algoritmul identificării unui virus are următoarele puncte nodale:

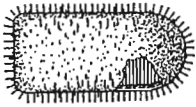
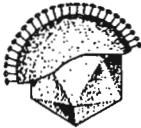
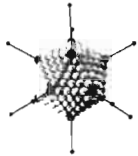
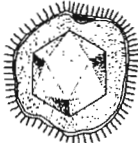
- (1) Circumstanțele clinico-epidemiologice ale izolării.
- (2) Patogenitatea experimentală: semnele clinice ale bolii experimentale, efectul citopatic, apariția incluziunilor citoplasmice sau nucleare. Virusul progen din infecția experimentală trebuie să fie identic cu cel din suspensia inoculată.
- (3) Particulele studiate provin din celule sau țesuturi infectate și sunt identice, indiferent de tipul celulei care le-a replicat.
- (4) Cantificarea infecțiozității suspensiei (DI50, DL50). Infecțiozitatea trebuie să fie direct proporțională cu numărul particulelor din suspensie. Prin infecțiozitatea suspensiei urmărim rata sedimentării în ultracentrifugare, curba stabilității la pH, sensibilitatea la eter, neutralizarea prin anticorpi specifici.
- (5) Spectrul de absorbție în ultraviolet al suspensiei purificate trebuie să se suprapună cu spectrul de inactivare a unui virus în ultraviolet (254 nm lungime de undă).
- (6) Identificarea antigenică prin reacții de inhibare a hemadsorbției, reacții de neutralizare, colorație imunofluorescentă etc.
- (7) Studiul acidului nucleic: ARN sau ADN, caracteristicile moleculare.
- (8) Studiul electronomicrografiilor: dimensiuni, morfologie, nucleocapsidă etc.

În circumstanțe clinico-epidemiologice particulare identificarea poate fi ținută: e.g., infecția experimentală și identificarea antigenică (identificarea unui enterovirus izolat de la pacienți cu sindroame sugestive), imuno-electronomicroscopie (identificarea rotavirusurilor în scaunul diareic al copiilor).

Tabelul 4-1 Clasificarea în familii a virusurilor cu interes medical

Familia	Morfologia, structura și proprietățile virionilor	
<i>Picornaviridae</i> (it. <i>picco</i> : mic, virusuri ARN mici)	Genom ARN m.c. „+”, linear, $2,5 \times 10^6$ da, o moleculă; fără transcriptază asociată. Virion nud, ϕ 22-30 nm, nucleocapsida icosaedrică, 32 capsomere, 4 polipeptide.	
<i>Caliciviridae</i> (lat. <i>calix</i> , - <i>yicis</i> : cupă; referitor la forma nucleocapsidei)	Genom ARN m.c. „+”, linear, $1,8-2,8 \times 10^6$ da, o moleculă; fără transcriptază asociată. Virion nud, ϕ 35-39 nm, nucleocapsida icosaedrică, 32 capsomere, un polipeptid major, urme din altul.	
<i>Reoviridae</i> (Reo, sigla de la: <i>Respiratory enteric orphan</i>)	Genom ARN d.c., linear, $12-20 \times 10^6$ da, 10-12 piese; transcriptază asociată. Virion ϕ 60-80 nm, capsida icosaedrică dublă, capsomere ¹⁾ , până la 10 polipeptide.	
<i>Togaviridae</i> (lat. <i>toga</i> : haină romană; înveliș)	Genom ARN m.c. „+”, linear, 4×10^6 da, o moleculă poli(A) la extremitatea 3'; fără transcriptază asociată. Virion cu anvelopă, ϕ 40-70 nm, nucleocapsida icosaedrică, 32? capsomere, 3-4 polipeptide.	
<i>Flaviviridae</i> (lat. <i>flavus</i> : galben; de la febra galbenă)	Genom ARN m.c. „+”, linear, 4×10^6 da, o moleculă fără poli(A) la extremitatea 3'; fără transcriptază asociată. Virion cu anvelopă, ϕ 40-70 nm, nucleocapsida icosaedrică, ? capsomere, 3-4 polipeptide.	
<i>Bunyaviridae</i> (Bunyavera: localitate din Uganda)	Genom ARN m.c. „-”, linear, $6-15 \times 10^6$ da, 2 piese; transcriptază asociată. Virion cu anvelopă, ϕ 90-100 nm, nucleocapsida helicală, ≥ 4 polipeptide.	
<i>Arenaviridae</i> (lat. <i>arenosus</i> : nisipos; aspect dat de ribosomii încorporați)	Genom ARN m.c. „-”, linear sau circular, $3-5 \times 10^6$ da, 2 piese; transcriptază asociată. Virion ϕ 50-300 nm, cu anvelopă care încorporează ribosomi ai celulei gazdă, simetrie necunoscută, ≥ 4 polipeptide.	
<i>Coronaviridae</i> (lat. <i>corona</i> : coroană; aspectul glicoproteinelor proeminente pe anvelopă)	Genom ARN m.c. „+”, linear, 7×10^6 da, o moleculă; fără transcriptază. Virion cu anvelopă, ϕ 75-160 nm, nucleocapsida helicală, 4-6 polipeptide.	
<i>Orthomyxoviridae</i> (gr. <i>orthos</i> : drept, corect; <i>myxo</i> : mucus; adevăratele myxovirusuri)	Genom ARN m.c. „-”, linear, 5×10^6 da, 8 piese; transcriptază asociată. Virion cu anvelopă, ϕ 80-120 nm, nucleocapsida helicală, 7-9 polipeptide.	
<i>Paramyxoviridae</i> (gr. <i>para</i> : alături; alături de myxovirusuri)	Genom ARN m.c. „-”, linear, $5-7 \times 10^6$ da, o moleculă; transcriptază asociată. Virion cu anvelopă, ϕ 150 nm, nucleocapsida helicală, 5-7 polipeptide.	

Tabelul 4-1 (continuare)

Rhabdoviridae (gr. <i>rhabdos</i> : baston; referitor la forma virionului)	Genom ARN m.c. „-”, linear, 4×10^6 da, o moleculă; transcriptază asociată. Virion ϕ 75 nm per 180 nm lungime, nucleocapsida helicală, 5-6 polipeptide.	
Filoviridae (lat. <i>filum</i> : fir; referitor la forma virionului)	Genom ARN m.c. „-”, $5-7 \times 10^6$ da. Virion ϕ 80 nm, lungimea până la 14.000 nm, nucleocapsida helicală, ≥ 5 polipeptide.	
Retroviridae (lat. <i>retro</i> : înapoi; se referă la funcția reverstranscriptazei)	Genom ARN m.c. „+”, linear, 6×10^6 da, dimeri inversați, 2 piese, reverstranscriptază asociată. Virion cu anvelopă, ϕ 80-100 nm, nucleocapsida icosaedrică, 7 polipeptide.	
Parvoviridae (lat. <i>parvus</i> : mic)	Genom ADN m.c. „+”, linear, $1,5-2,2 \times 10^6$ da, o moleculă, fără transcriptază asociată. Virion nud, ϕ 18-26 nm, nucleocapsida icosaedrică, 32 capsomere, 3 polipeptide.	
Hepadnaviridae (virus hepatitic cu ADN)	Genom ADN parțial d.c., circular, catena parțială „+”, $2,3 \times 10^6$ da, ADN polimerază asociată. Virion cu anvelopă, ϕ 42 nm, mai multe polipeptide.	
Papovaviridae (papilom, poliomi, vacuolant)	Genom ADN d.c., circular, $3,5 \times 10^6$ da, o moleculă; fără transcriptază asociată. Virion nud, ϕ 45-55 nm, nucleocapsida icosaedrică, 72 capsomere, cca 5 polipeptide.	
Adenoviridae (gr. <i>adenos</i> : glandă; referitor la tropismul pentru țesutul limfoid)	Genom ADN d.c., linear, $20-30 \times 10^6$ da, o moleculă; fără transcriptază asociată. Virion nud, ϕ 70-90 nm, nucleocapsida icosaedrică, 252 capsomere, fibră la fiecare vertex, >10 polipeptide.	
Herpesviridae (gr. <i>herpeton</i> : animal șerpuitor; se referă la dispoziția veziculelor în herpes)	Genom ADN d.c., linear, $80-150 \times 10^6$ da, o moleculă; fără transcriptază asociată. Virion cu anvelopă, ϕ 120-200 nm, nucleocapsida icosaedrică, 162 capsomere, >20 polipeptide.	
Poxviridae (engl. veche <i>pock</i> : pustulă, ulceratie; se referă la leziunile determinate)	Genom ADN d.c., linear, $80-240 \times 10^6$ da, o moleculă; transcriptază asociată. Virion cu formă de cărămidă sau ovală cu 300- 450/170-260 nm, înveliș extern lipidic, miezul conține genomul, >40 polipeptide ²⁾ .	

¹⁾ În dubla capsidă a reovirusurilor numărul capsomerelor este imprecis determinat.

²⁾ Genul *Orthopoxvirus* este rezistent la eter; alte genuri de poxvirusuri sunt sensibile.

4.6. BACTERIOFAGII

„...principiul litic, pe care l-am numit *Bacteriophagum intestinalis* sau *Bacteriofag*, este o particulă care se multiplică pe seama substanței bacteriilor, capabilă în consecință de asimilare, și care este indefinit cultivabilă în serie, in vitro, sub forma sa filtrantă... termenul «*Bacteriofag*» ... a fost criticat. Evident, nu am luat sufixul «*fag*» în sensul său strict de a mânca, ci în cel de a «se dezvoltă pe seama»».

FÉLIX-HUBERT d'HERELLE, 1917

Virusurile bacteriilor, numite uzual bacteriofagi, sau, pe scurt, fagi, sunt variate în raport cu genomul, simetria nucleocapsidei, structura și morfologia virionilor. Adsorbția și penetrarea fagilor în bacterii diferă cu specificitatea și topografia receptorilor bacterieni (planșa 4.5). Cei mai mulți fagi sunt nuzi. Multe dintre concepțiile geneticii moleculare și tehnici de inginerie genetică (☞ Capitolul 5) au rezultat din studiul relațiilor fag-bacterie.

Odată cu penetrarea genomului fagic în bacterie, începe faza de eclipsă în care fagul evoluează ca *fag vegetativ* sau ca *profag*. Fagul vegetativ are un sistem de gene „vegetative” prin care controlează replicarea virionilor progeneri maturi, infectanți, eliberați prin liza bacteriei. Bacteriofagii care trec alternativ numai prin stadiile de *fag infectant* și de *fag vegetativ* sunt numiți **fagi virulenți**. Ei infectează numai bacteriolitic. Bacteriofagii care trec alternativ prin stadiile de *fag infectant*, *profag*, și *fag vegetativ* sunt numiți **fagi temperați**. Ei infectează persistent cu posibilitatea de reactivare. *Bacteria care găzduiește un profag se numește lizogenă* pentru că, după un număr nedeterminat de diviziuni, generează progeneri maturi, litici (fig.4-10). În stadiul de profag genele „vegetative” sunt represate și funcționează numai genele care controlează perpetuarea profagului în descendenții bacteriei gazdă și, eventual, gene care se exprimă în fenotipul bacteriei gazdă (☞ Capitolul 5). Profagii se integrează în cromosomul bacterian ca episomi sau se circularizează și se atașează la membrana citoplasmică. În ambele cazuri profagul se replică sincron cu genomul bacteriei gazdă. Integrarea profagului în cromosom este controlată de o genă fagică și poate fi situs specifică (e.g., fagul λ se integrează între operonii *lac* și *bio*) sau prin inserție aleatorie într-o genă (e.g., fagul Mu) când se produce o mutație cu pierdere de funcție specifică genei întrerupte de inserție.

Ciclului bacteriei lizogene îi sunt conecte: inducția fagică, imunitatea, variații genotipice.

- **Inducția fagică.** Cultura lizogenă generează spontan, cu frecvență de 10^2 - 10^5 , prin derepresia genelor vegetative, fag infecțios. Sub acțiunea unor factori de mediu (e.g., doze subletale de radiații ultraviolete) aproape în toate celulele culturii lizogene profagul evoluează în fag vegetativ cu replicare de fagi infecțioși. Fenomenul, numit **inducție**, nu alterează genomul fagic și este reversibil.

- **Imunitatea.** Bacteriile lizogene sunt imune față de fagii virulenți omologi profagului găzduit. Aceștia se adsorb, genomul lor penetrează în citoplasmă, dar represorul codificat de profag îi inhibă replicarea.

- **Variații genotipice:** *conversia lizogenică* (☞ Capitolul 5).

Aplicații medicale ale bacteriofagiei sunt: lizotipia, identificarea unor bacterii, depistarea unor bacterii patogene sau a substanțelor cancerigene din ambient.

- **Lizotipia.** Bacteriofagii subdivid populațiile unei specii bacteriene în mai multe lizotipuri în funcție de prezența sau nu a receptorului specific. Dacă receptorul este prezent, fagul va

determina pe cultura bacteriei testate plaje de liză, care nu apar în absența receptorului specific (planșa 4.6). Lizotipurile sunt importanți markeri epidemiologici pentru bacilii tifici, *Staphylococcus aureus* ș.a.

- *Anumiți fagi au specificitate de specie și permit identificarea acestora: e.g., fagul Tb (Tbilisi) specific pentru Brucella abortus.*

- *Depistarea sensibilă a unor bacterii patogene în apă (de canal, de consum etc.). Fagii bacililor tifici sau dizenterici pot fi căutați în probele de apă cu ajutorul unor tulpini indicator. Prezența acestor fagi atestă și prezența speciilor bacteriene corespunzătoare.*

- *Depistarea substanțelor cancerigene din mediu prin inducția pe care o produc în cultura unei bacterii lizogene.*

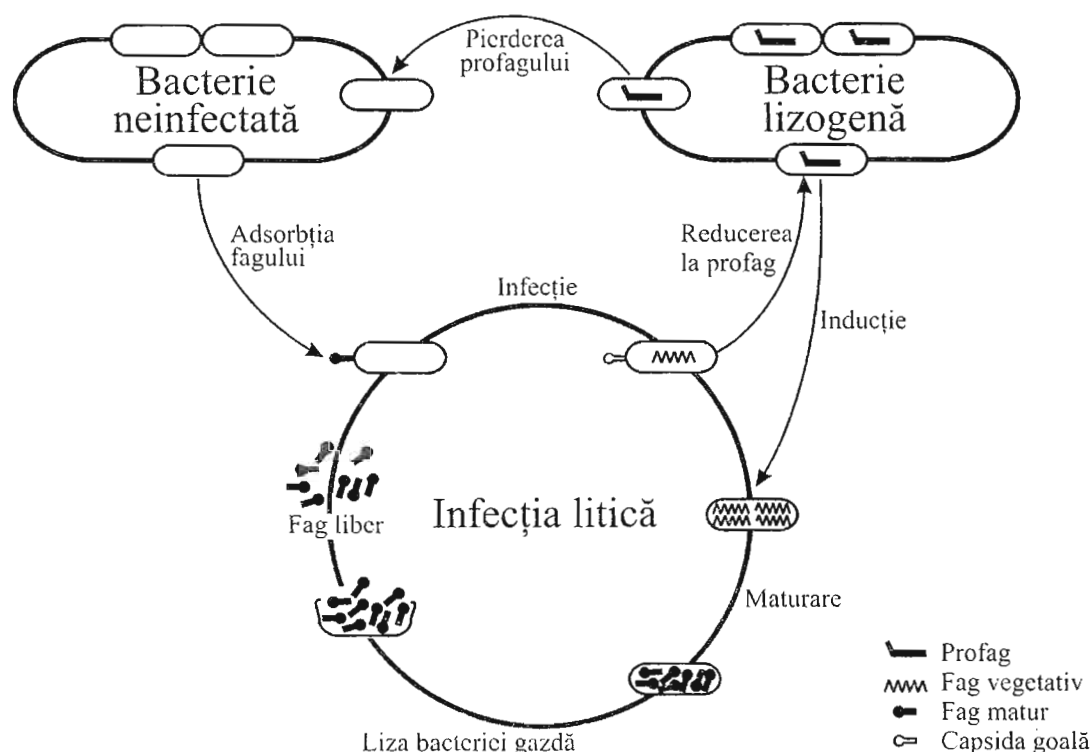


Fig. 4-10 Ciclurile fag-bacterie gazdă

Bacteriofagii sunt important **element de echilibru ecologic** în microbiota apelor de suprafață: distrug bacteriile corespunzătoare din apa râurilor, încât concentrația acestora devine nesemnificativă la mai mulți kilometri de sursa de poluare (e.g., vibrionii holerici).

DUMITRU T. BUIUC, ANA VORNICU

„Modelului unui tipar interior, biologia moleculară i-a substituit pe cel al unui mesaj linear... dintre toate distribuțiile posibile de elemente materiale, secvența este cea care poate fi reprodusă cu maximă fidelitate și cu cheltuieli minime.”

FRANÇOIS JACOB

Bazele geneticii moleculare au fost puse în anii 1930–1940 prin studiile făcute asupra bacteriilor. După 1960 descoperirile în genetica microbiană au devenit explozive, cu implicații directe în taxonomia microbiană, în descifrarea bazelor moleculare ale patogenității microorganismelor, descoperirea mecanismelor microbiene de rezistență la antibiotice, imaginarea unor metode și tehnici de diagnostic foarte sensibile și rapide în microbiologia clinică, ingineria genetică. Vom trata diferențiat genetica bacteriilor de cea a virusurilor.

5.1. GENETICA BACTERIILOR

5.1.1. Organizarea genomului bacterian și variabilitatea bacteriilor

Genomul bacterian este format din cromosom, plasmide și episomi. La bacteriile lizogene trebuie să luăm în considerație și genomul profagilor.

Cromosomul bacterian, prin cele cca $16 \cdot 10^6$ perechi de nucleotide, organizate în aproximativ 6000 de gene, controlează structurarea, creșterea și multiplicarea normală a celulei (tabelul 5-1).

Tabelul 5-1 Date privind structura moleculară a unei bacterii cu dimensiuni medii
(K. McQuillen: *Function and Structure in Microorganisms. 15-th Symposium of the Society for General Microbiology*)

ADN	Proteinele
Moleculă unică de ~ 2000 μm lungime Greutatea $5 \cdot 10^9$ daltoni ~ $1,6 \cdot 10^7$ perechi de nucleotide ~ 2500 nucleotide / genă ~ 6400 gene	~ $2 \cdot 10^6$ molecule Greutatea ~ $9 \cdot 10^9$ daltoni ~ $8 \cdot 10^8$ aminoacizi ~ 400 aminoacizi / moleculă ~ 1000 tipuri de molecule

Plasmidele sunt elemente genetice extracromosomale, care se replică autonom; cele mai multe sunt circulare, doar la *Borrelia* și puține alte bacterii pot fi lineare. Au până la 5% din greutatea cromosomului. Ca și cromosomul, întotdeauna plasmidele sunt atașate unui situs membranar de replicare. Ca elemente genetice accesorii sunt dispensabile în economia celulei bacteriene. Când există, prin caracterele pe care le codifică, asigură supraviețuirea bacteriilor

în condiții modificate de mediu, dar, prin sintezele suplimentare impuse, prelungesc timpul de generație al bacteriei. Evident, caracterele codificate plasmidic sunt caractere de tulpină, nu de specie. În structura plasmidelor distingem determinanți genetici esențiali pentru autonomia replicativă și determinanți care codifică structuri și molecule exprimate în fenotipul bacterian. La plasmidele numite conjugative, pe scurt **conjugoni**, apar și determinanți care codifică structurile implicate în conjugarea bacteriană. În general, determinanții responsabili de autonomia plasmidului și cei care codifică structurile de conjugare sunt grupați compact fără intercalări de gene care codifică structuri exprimate fenotipic. În aceeași celulă un plasmid poate fi prezent în una sau mai multe copii. În raport cu caracterele exprimate fenotipic, plasmidele sunt clasificate în: (1) Plasmide de virulență. (2) Plasmide care codifică enzime ale unor căi metabolice particulare (e.g., fixarea azotului la *Klebsiella*, degradarea toluenului, camforului sau octanului la *Pseudomonas* etc.). (3) Plasmide care codifică sinteza unor agenți antimicrobieni (bacteriocine, unele antibiotice). (4) Plasmide de rezistență la agenți antimicrobieni. (5) Plasmide criptice, cărora nu le sunt cunoscute caracterele codificate.

Episomii sunt plasmide sau genome profagice integrate linear în cromosomul bacterian.

Variațiile bacteriilor pot fi fenotipice sau genotipice.

Variația fenotipică este indusă de interacțiunea genomului cu factori de mediu, este reversibilă și nu se transmite ereditar. Ea adaptează ansamblul unei populații bacteriene, cu același genotip, la condiții modificate de mediu. Are la bază controlul transcripției genelor în ARNm și traducerii acestuia în proteine. Exemple de variații fenotipice pot fi: (1) Represia genelor vegetative ale unei bacterii în cursul sporulării și inducția acelorași gene declanșează germinarea sporilor. (2) Inducția unor β -lactamaze de către antibiotice β -lactamice. (3) Inducția în prezența lactozei a enzimelor prin care *Escherichia coli* degradează acest dizaharid (galactozid-permeaza, β -galactozidaza și thiogalactozid-transacetilaza). (4) Represia sintezei de triptofan de către *E. coli* în prezența acestui aminoacid în mediu.

Variația genotipică este o modificare bruscă, transmisibilă ereditar, a unui sau mai multor caractere ale unui individ. Două mecanisme generează variații genotipice: mutația și transferul de ADN urmat sau nu de recombinare genetică.

5.1.2. Mutațiile

„Lipsit de o minte care să-l impună, lipsit de o imaginație care să-l poată reînnoi, programul genetic se transformă realizându-se.”

FRANÇOIS JACOB

5.1.2.1. Mutația este o modificare în secvența nucleotidică a unei gene, o eroare de autoreplicare a ADN. Diferitele forme ale unei gene apărute prin mutație se numesc **alele** și ocupă același locus genetic ca și gena originală. Mutațiile sunt evenimente rare, spontane, specifice și independente, discontinui și stabile.

Mutația este un eveniment rar. Rata mutației este probabilitatea apariției unei mutații. Este măsurată per celulă și per generație. Pentru un singur caracter rata mutației variază între 10^{-6} și 10^{-9} . Cu alte cuvinte, probabilitatea apariției unei mutante este de una la fiecare 10^6 - 10^9 diviziuni celulare sau, altfel spus, într-o populație de 10^6 - 10^9 bacterii există șansa să găsim o mutantă pentru un caracter oarecare. Rata mutației crește sub acțiunea agenților mutageni fizici (radiații ultraviolete, ionizante) sau chimici (nitrosoguanidină, acid nitros etc.).

Doi factori favorizează prezența și manifestarea mutațiilor bacteriene: (1) *Mărimea populațiilor bacteriene*. *In vitro*, la sfârșitul fazei exponențiale, populația unei bacterii ajunge la 10^{10} - 10^{12} celule/mL. Rețineți că asemenea populații se pot realiza și *in vivo* în microbiota indigenă sau în diferite focare de infecție. În asemenea populații avem șansa de a găsi, spre exemplu, 1-2 mutante rezistente la streptomycină (rata 10^{-6}) sau una rezistentă la rifampicină (rata 10^{-8}). (2) *Caracterul haploid al bacteriilor*: o genă mutantă nu poate fi compensată prin alela nonmutantă ca la celulele diploide. În consecință, expresia mutației bacteriene este imediată.

Mutațiile sunt spontane și imprevizibile. Nu știm în care genă se va produce eroarea de replicare și care va fi caracterul mutant, după cum nici tipograful nu știe în care cuvânt, din care propoziție va face o eventuală greșală. Putem identifica mutante într-o populație bacteriană numai în măsura în care utilizăm o presiune selectivă absolută prin care omorâm sau oprim creșterea populației parentale și favorizăm înmulțirea mutantei, care va genera o clonă cu caracterul mutant. Câte feluri de presiuni selective vom utiliza, atâtea tipuri de mutante vom avea șansa să identificăm. În exemplele de mai sus, mutantele rezistente la streptomycină le depistăm utilizând ca factor presor selectiv streptomicina, iar cele rezistente la rifampicină prin presiunea selectivă a rifampicinei. De aceea, instrumentul pentru detectarea de mutante a fost sugestiv numit „*sită selectivă*”.

Necesitatea „*sitei selective*” pentru depistarea mutantelor a mascat inițial caracterul spontan al mutațiilor. Luria și Delbrück prin testul fluctuației și Lederberg prin replica culturilor (tabelul 1-6) au demonstrat că mutantele preexistă într-o populație bacteriană înaintea contactului cu agentul selectiv. Deci, în exemplele luate, nu streptomicina sau rifampicina au indus mutațiile respective, ele ne-au ajutat numai să le depistăm în mulțimea populației parentale.

Mutațiile sunt discontinui. Între tipul sălbatic și tipul mutant nu există forme de trecere, mutația urmează legea totul sau nimic. Variația S→R a pneumococilor se produce brusc prin mutația genei care codifică polizaharidul capsular. Variația S→R a enterobacteriaceelor se produce prin sumarea de mutații succesive în genele care codifică diferitele segmente ale LPS: mutante Ra, Rb, Rc etc. (fig.2-5).

Mutațiile sunt specifice și independente. Rata mutației pentru două caractere este produsul ratei pentru fiecare caracter în parte. Dacă rata mutației pentru rezistența la rifampicină este de 10^{-8} și a celei pentru izoniazidă de 10^{-5} , posibilitatea mutației pentru dublă rezistență va fi de 10^{-13} . O cavernă tuberculoasă evolutivă poate conține 10^8 bacili. În monoterapie, teoretic, selecția poate începe de la o mutantă rezistentă la rifampicină ($10^8/10^8 = 1$) sau de la 10^3 mutante rezistente la izoniazidă ($10^8/10^5 = 10^3$). Asocierea celor două antibiotice va preveni selecția oricărei mutante rezistente pentru că o populație de 10^{13} bacili nu apare obișnuit într-o leziune tuberculoasă.

Mutațiile sunt stabile. Caracterul mutant se transmite indefinit la descendenți chiar în absența presiunii selective asupra culturilor. Numai mutații reverse care apar cu aceeași rată pot restaura tipul sălbatic.

5.1.2.2. Mecanismele de reparare a ADN. La viteza enormă a reacțiilor biochimice, erorile de replicare a ADN sunt inevitabile, dar bacteriile au două mecanisme prin care le recunosc și le corectează în anumite limite: repararea prin excizie și răspunsul S.O.S.

Repararea prin excizie este controlată de patru enzime care acționează coordonat: (1) Endonucleaze „pipăie” catena de ADN progen și o clivează de o parte și de alta a erorii. (2) O 3'-exonuclează excizează situsul erorii prin digestie secvențială. (3) ADN-polimeraza transcrie de pe catena parentală situsul excizat. (4) ADN ligaza reface continuitatea catenei. Intervalul la dispoziție pentru repararea erorii este foarte scurt: de la transcrierea catenei progene până la metilarea nucleotidelor în poziții specifice, care individualizează noua catenă ca „proprie”. După metilare mecanismul devine inoperant: eroarea este „însușită” de celulă ca mutație.

Răspunsul S.O.S. Dacă eroarea este extinsă, furca de replicare a ADN este blocată la nivelul erorii.

Situsul erorii este identificat, clivat și excizat. Proteina *rec A*, codificată de o genă a operonului *rec*, se fixează pe catena parentală în dreptul exciziei și acționează bifuncțional: (1) Inițiază recombinări genetice (☛ Subcapitolul 5.1.3.1.), modalitate posibilă de reparare a erorii extinse; (2) Inactivează represori ai unor profagi și ai enzimelor sistemului de reparare a ADN. Consecințele sunt: rata crescută a recombinărilor genetice, inducția enzimelor de reparare a ADN și inducția profagilor.

5.1.2.3. Modalitățile mutației și impactul lor asupra fenotipului bacterian.

Substituții și inversii nucleotidice modifică un singur codon, sunt punctiforme. Consecințele posibile sunt trei:

(1) Apariția unui codon sinonim rămâne imperceptibilă fenotipic: structura lanțului polipeptidic codificat nu se modifică.

(2) Apare un codon nou (e.g., GAA-leucină → GTA-histidină). Aceasta este o **mutație cu sens greșit**. Există două posibilități: (i) Noul aminoacid este în afara situsului funcțional al polipeptidului (e.g., o enzimă) – mutația rămâne mută. (ii) Noul aminoacid este în situsul funcțional – o funcție este pierdută ori modificată.

(3) Apare un codon non-sens (UAA, UAG sau UGA). Este o **mutație non-sens**, care duce la sinteza unui polipeptid incomplet. Mutația non-sens din prima genă structurală a unui operon este o **mutație polară** pentru că sistează traducerea următoarelor gene structurale; bacteria pierde mai multe polipeptide (e.g., o secvență metabolică).

Insertiile și delețiile pot interesa un singur nucleotid sau mai multe nucleotide.

• **Microinsertiile și microdelețiile** interesează un singur nucleotid și duc la decalarea fazei de citire a codului genetic. Acestea sunt **mutații cu schimbare de proiect**; în fenotipul bacterian apare o proteină total nouă (fig.5-1).

```

AAC AUU UCU GUA CGU
--Asp----Ile-----Ser-----Val-----Ala
      ↘
AAC UAU UUC UGU AGC U...
--Asp----Tir-----Phe-----Cys-----Ser-----

```

Fig. 5-1 Exemplu de mutație cu schimbare de proiect. *Primele două rânduri*: secvențele nucleotidică și polipeptidică normale. În *rândul trei* uracilul se inseră în al doilea codon (săgeata) și defazează citirea codonilor subsecvenți, întregul mesaj este defazat și apare un nou polipeptid (*rândul patru*).

• **Macroinsertiile**. Inserția aleatorie într-o genă a unui fragment de ADN cu mai multe sute sau mii de perechi de baze întrerupe continuitatea genei și determină o mutație cu pierderea funcției codificate de genă. Asemenea mutații apar când elemente genetice definite se integrează aleatoriu în cromosom sau într-un plasmid: e.g., profagi, fagii Mu, secvențe de inserție, transpozoni (☛ mai jos).

• **Macrodelețiile** determină în general mutații letale. În istoria naturală a bacteriilor au fost însă identificate macrodeleții care au dus la apariția unor genuri noi de bacterii: *Mycoplasma*, bacterii fără perete, descinde printr-o asemenea macrodeleție dintr-un strămoș comun cu genul *Clostridium*, care reunește bacili gram-pozitivi sporulați anaerobi.

5.1.3. Transferuri și recombinări genetice

„Bacteriile sunt un superorganism uriaș, planetar, pentru că schimbă reciproc gene, oricât de diferite, purtătoare de informație utilă, chiar temporar favorabilă, dar niciodată pierdută. Bacteriile au solidaritate genetică.”

Opinii după o lectură (Sonea, S.: *Rev. Canad. Biol.*, 1972, 31:61-63)

Transferul genetic presupune o **bacterie donatoare** de ADN, pe care îl numim **exogenot**, și o **bacterie receptoare**, al cărei ADN constituie **endogenotul**. Fenomenul este analog, până la un punct, sexualității celulelor eucariote la care din fuziunea gameților haploizi, masculin și feminin, rezultă zigotul diploid. *La bacterii transferul genetic este*

parțial, iar diploidia, și ea parțială, este temporară. Celula bacteriană rezultată prin transfer de gene cromosomale este un **merozigot**. Exogenotul care nu are caractere de replicon este recunoscut de către endonucleazele de restricție și distrus, iar merozigotul revine la haploidie. Bacteria se apără de ADN străin, ori de câte ori îl recunoaște ca atare, pentru că poate fi virtual nociv (e.g., sinteze suplimentare ne semnificative, creșterea timpului de generație etc.). Gene ale exogenotului pot persista numai integrate în endogenot prin procesul numit recombinare genetică.

5.1.3.1. Recombinări genetice. Bacteriile își recunosc propriul ADN pentru că acesta este marcat prin metilarea nucleotidelor în poziții specifice. Metilarea este progresivă, pe măsura sintezei catenelor progene de ADN. Orice moleculă de ADN care nu este replicon și nu este metilată în poziție specifică este degradată prin **restricție**. Așa se întâmplă în cazul erorilor de replicare sau al unor transferuri genetice. Restricția o realizează endonucleazele de restricție, care recunosc și clivează secvențe specifice de 6-8 perechi de baze care constituie un palindrom, adică se citesc identic în ambele sensuri pornind de la extremitatea 3' a catenei de ADN. Fiecare specie are propriile enzime de restricție (fig. 5-2).



Fig. 5-2 Secvența nucleotidică recunoscută și clivată de endonucleaza de restricție Eco R1 produsă de *E.coli* (săgețile). După metilarea specifică (bazele marcate cu asterisc) această secvență nu mai este țintă pentru endonucleaza Eco R1.

Recombinările genetice pot fi legitime, în sensul unei anumite omologii structurale între exogenot și endogenot, sau nelegitime, în sensul recombinării catalizate enzimatic între secvențe diferite de ADN.

Recombinări legitime sunt: recombinarea generalizată și recombinarea situs specifică.

Recombinarea generalizată se face prin ruperea și reunirea moleculelor de ADN după substituirea uneia sau mai multor alele între endogenot și exogenot (fig.5-3). În final exogenotul este distrus, iar endogenotul rămâne cu informație genetică nouă. Recombinarea generalizată este controlată de genele *rec* care codifică enzimele implicate în ruperea și reunirea ADN. Mutații ale genelor *rec* scad eficiența recombinării generalizate.

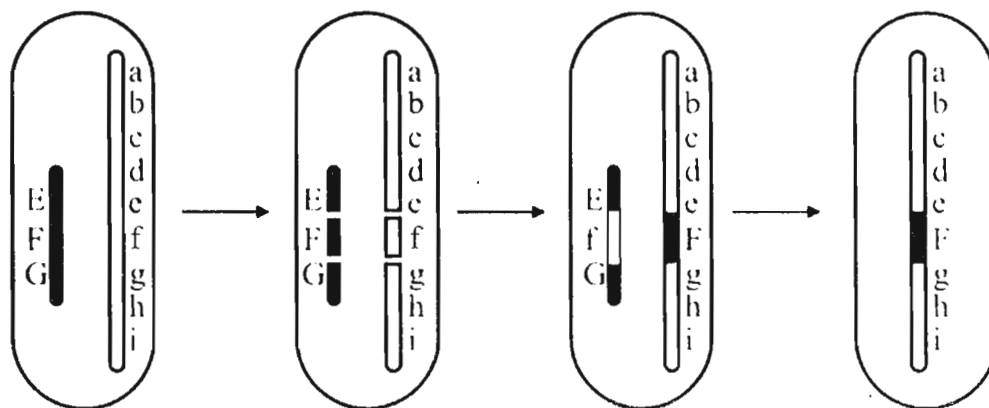


Fig. 5-3 Schemă simplificată a recombinării generalizate. Dunga albă reprezintă endogenotul cu genele sugerate prin litere mici, cea neagră exogenotul cu genele sugerate prin litere mari. Urmăriți substituția genei f cu alela F.

Recombinarea situs specifică. Integrarea în cromosom a unor episomi (factorul F, profagi etc.) implică o zonă de homologie, restrânsă la câteva perechi de baze, prezentă pe ambele elemente genetice și numită situs de atașare specific.

Recombinarea nelegitimă sau transpoziția constă în excizia copiilor monocatenare ale unor secvențe specifice de ADN urmată de inserția lor aleatorie în același replicon sau în unul diferit (planșa 5.1,1,2). Deci ceea ce deosebește transpoziția de recombinarea legitimă este lipsa oricărei relații între secvențele situsului donor și acceptor de ADN. Elementele transpozabile sunt: **secvențele de inserție (SI)**, cu dimensiuni de 0,8-1,4 Kb și **transpozoni (Tn)**, cu dimensiuni de 3-20 Kb. În structura elementelor transpozabile distingem: • repetări inversate a 20-40 perechi de baze, care flanchează elementul, fiind situsuri recunoscute de enzimele care controlează replicarea, deleția și transpoziția; unii transpozoni sunt flancați de SI; • gene care codifică propriile transpozaze și, eventual, represori ai acestora; • prezente la transpozoni, dar absente la SI, gene care se exprimă în fenotipul gazdei prin rezistență la diferite antibiotice, factori de patogenitate sau activități biochimice.

Transpoziția determină și o mutație cu pierdere de funcție prin întreruperea continuității unei gene. Copii ale aceluiași transpozon se pot înscrie repetat în repliconul acceptor, ceea ce determină expresia cantitativ mai importantă a caracterului fenotipic codificat de transpozon. După deleția elementului transpozabil (eveniment de regulă mai rar decât inserția) aceste gene revin la expresia normală.

Independența relativă a transpoziției de omologia elementelor transpozabile și situsurilor de inserție permite recombinări genetice între tulpini ale unor specii îndepărtate taxonomic, de unde și implicațiile fenomenului asupra capacităților adaptative ale bacteriilor. Așa apariția și evoluția factorilor R este explicată prin înscrierea unor transpozoni de rezistență la antibiotice pe scheletul unor plasmide criptice. Uneori a fost identificată înscrierea într-un factor R a genelor care codifică sinteza de toxine bacteriene.

5.1.3.2. Transferuri genetice. Există trei mecanisme de transfer genetic la bacterii: transformarea, conjugarea, transferul prin bacteriofagi (transducția și conversia lizogenică). Recombinanții sunt uzual numiți în raport cu mecanismul transferului genetic: transformanți, transconjuganți și respectiv transductanți.

(1) Transformarea este un transfer genetic realizat când o bacterie acceptă ADN liber provenit de la bacteria donor.

Prima transformare experimentală a fost realizată de Griffith în 1928 când studia virulența pneumococilor pentru șoareci. Pneumococii izolați de la pacienți cu pneumonie formează culturi S, sunt capsulați și sunt foarte virulenți pentru șoareci (1-2 pneumococi injectați subcutan determină infecție septicemică mortală). Repicați repetat pe medii de cultură *in vitro*, pneumococii suferă variația S→R și pierd, odată cu capacitatea de sinteză a capsulei, și virulența pentru șoareci. Pneumococii au numeroase serotipuri capsulare. Griffith a observat că șoarecii injectați cu amestec de pneumococi serotip 1 omorâți prin căldură și pneumococi vii ai variantei necapsulate provenită din alt serotip mureau, iar în hemoculturile șoarecilor morți izola pneumococi serotip 1 (fig.5-4). În 1944 Avery și colab. au demonstrat *in vitro* că variantele necapsulate de pneumococi pot fi transformate în variante capsulate ale altui serotip prin expunere la un agent transformant prezent în extractele acelulare ale tulpinii capsulate. Agentul transformant din aceste extracte era ADN-ul.

În medii naturale ADN transformant rezultă din liza spontană a bacteriilor donatoare. Transformarea a fost descrisă la câteva bacterii gram-pozitive (pneumococi, specii de *Bacillus*) și gram-negative (*Haemophilus*, *Neisseria*, *Moraxella-Branhamella*).

Transformarea este restrictivă pentru cel puțin patru motive care decurg din mecanismul complex al fenomenului:

(1) Prezența ADN liber trebuie să coincidă cu *starea de competență a bacteriei receptoare*. Această competență implică sinteza unor molecule proteice de legare și translocare membranară specifică a ADN. Momentul apariției, durata și condițiile în care se manifestă competența variază cu specia bacteriană.

(2) ADN transformant trebuie să fie bicatenar și cu dimensiunea critică de cel mult 1% din genomul bacterian (cca 10^6 daltoni).

(3) În prezența unui exces de ADN doar cca 10% din bacteriile competente îl primesc efectiv.

(4) Frecvența recombinării unui caracter al donorului în bacteria receptoare este de numai 10^{-4} - 10^{-6} . De aceea pentru depistarea transformanților recurgem la o „sită de selecție”: e.g., leucocitele șoarecilor în experimentul lui Griffith ori Avery și colab., un anumit antibiotic dacă markerul transferat este unul de rezistență la antibiotic.

Rolul transformării în evoluția naturală a bacteriilor pare redus.

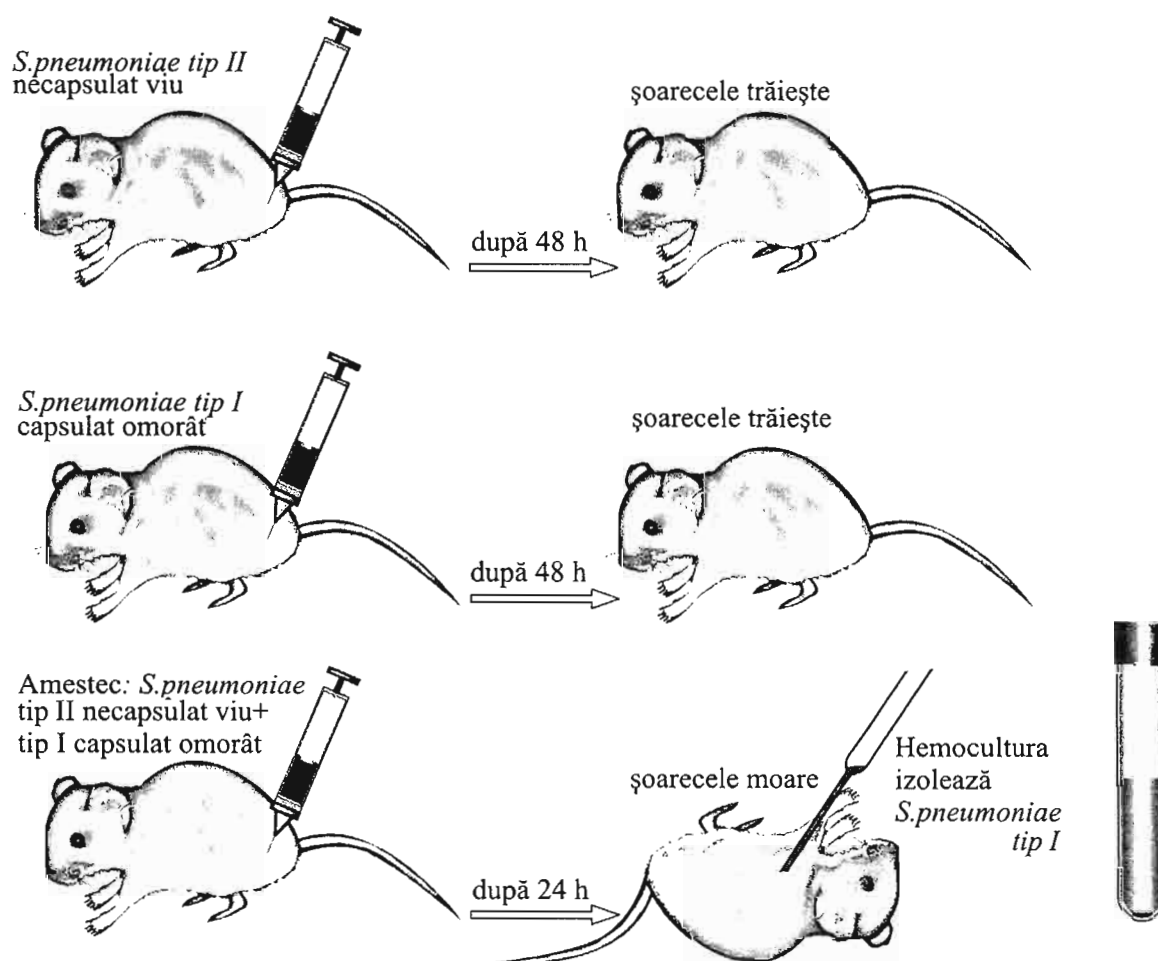


Fig. 5-4 Experimentul lui Griffith

(2) **Conjugarea** este un transfer genetic realizat prin contact fizic între două bacterii cu polarizare sexuală. Transferul se face în sens unic de la bacteria donator către cea receptoare, iar după transfer bacteria donator rămâne viabilă. Capacitatea de donator este conferită de plasmide conjugative numite **conjugoni**, care codifică, prin genele *tra* (de transfer), reunite într-un operon, structuri și enzime necesare transferului ADN. Până în prezent știm că la bacteriile gram-negative conjugarea se face prin *pili sexuali*, iar la enterococi prin *feromoni*

(hormoni sexuali primitivi), care determină aderența bacteriei donatoare la cea receptoare. Conjugarea are loc atât intraspecific cât și interspecific. Fiziologia și efectele conjugării diferă după cum conjugonul este independent în citoplasmă sau integrat ca episom în cromosom.

Factorul F și fiziologia conjugării prin pili sexuali. Cel mai simplu conjugon la bacilii gram-negativi este factorul F, care poartă numai genele operonului *tra*. Bacteriile care găzduiesc factorul F le numim F^+ , au pili sexuali și sunt donatoare. Cele lipsite de factor F le numim F^- , au receptori pentru pili sexuali și sunt acceptoare de ADN. Alți conjugoni poartă, în afara genelor *tra*, și gene care se exprimă fenotipic prin sinteza de enzime inactivatoare de antibiotice (factorii R), sinteza de bacteriocine (factorii *col*) sau sinteza unor molecule sau structuri de virulență.

Factorul F se replică autonom fiind fixat la un situs membranar de replicare în vecinătatea căruia se formează pilul sexual. Prin fixarea pilului sexual pe receptorul specific se formează o pereche specifică. Retractarea pilului apropie bacteriile partenere cu formarea unei perechi eficiente unită printr-o punte citoplasmică (planșa 5.1,3). Aceasta declanșează o replicare particulară a conjugonului, numită *replicare de transfer*: o nuclează, codificată de o genă *tra*, clivează una din catenele ADN la originea transferului. Capătul 5' al acestei catene, dirijat de o enzimă codificată de altă genă *tra*, trece prin puntea citoplasmică în celula receptoare. Conjugonii se replică pe matrițele catenelor parentale, se circularizează și, prin ruperea cuplului, rezultă două bacterii F^+ : bacteria donatoare și transconjugantul (fig.5-5). După numai o oră de contact între o populație F^+ și alta F^- , 50% din bacteriile F^- devin F^+ .

Un conjugon asigură, pe lângă propriul transfer, și cotransferul unor plasmide nonconjugative. Dar în cursul acestei conjugări transferul de gene cromosomale este eventualitate rară cu rata de numai 10^{-5} .

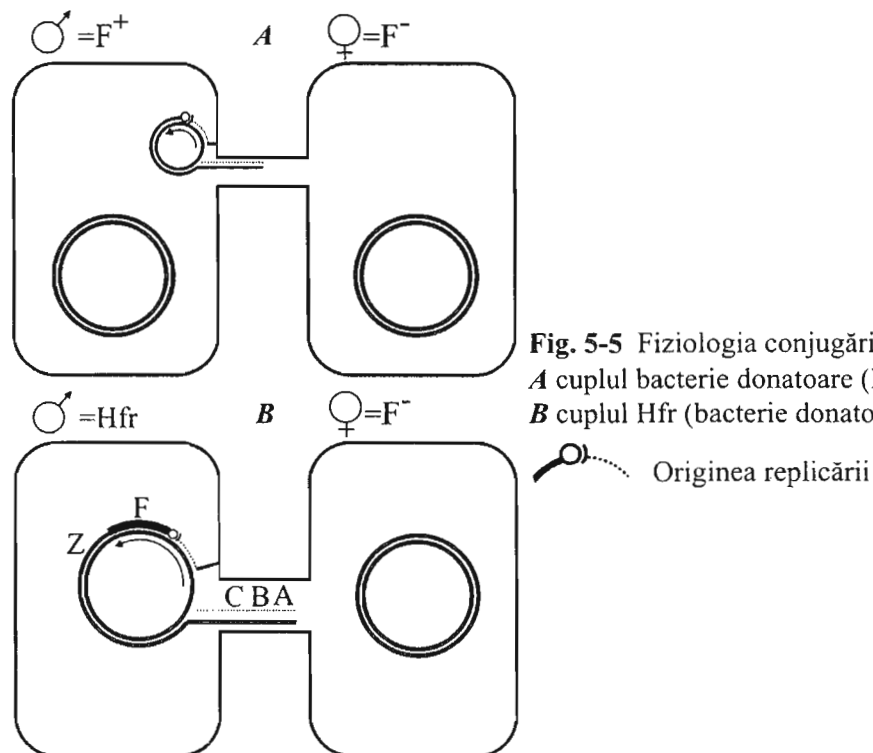


Fig. 5-5 Fiziologia conjugării bacteriene prin pili sexuali: A cuplul bacterie donatoare (F^+)-bacterie receptoare (F^-). B cuplul Hfr (bacterie donatoare)- F^- (bacterie receptoare).

● Originea replicării

Donorii Hfr și fiziologia conjugării între bacterii Hfr și bacterii F^- . Factorul F se poate integra în cromosom cu frecvență de 10^{-5} în 8-10 situsuri specifice (mai frecvent între ultima genă structurală și terminarea replicării cromosomului). Bacteriile care poartă factor F episomal generează clone care transferă cu mare eficiență gene cromosomale (fig.5-5), motiv

pentru care au fost numite Hfr (de la *High frequency of recombination*). Transconjuganții Hfr-F⁻ rămân în continuare F⁻ pentru că episomul F este ultimul transferat iar cuplul bacterian se separă înainte de acest transfer din cauza mișcării browniene și a mobilității partenerilor. Transferul întregului cromosom ar necesita 120 minute la 37°C. Cuplurile pot fi rupte și prin agitare mecanică a suspensiei bacteriene la intervale determinate de timp. Analiza procentuală a noilor caractere fenotipice exprimate de transconjuganți, ținând cont de originea replicării și timpul necesar transferului unui anumit caracter, permite localizarea genelor pe un replicon. Acesta este un important principiu al cartării cromosomului bacterian (fig.5-6) și a altor repliconi.

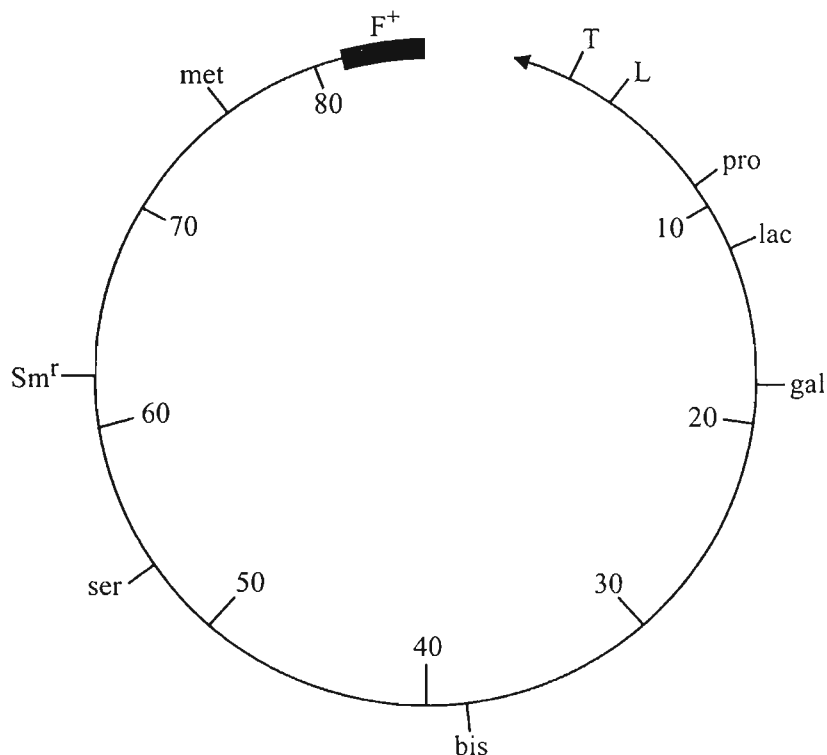


Fig. 5-6 Harta genetică simplificată a cromosomului la *Escherichia coli*. În exteriorul cercului apar abreviat markerii identificați (T sinteza treoninei, L a leucinei, pro a prolinei; lac fermentarea lactozei, gal a galactozei; shis sinteza histidinei, ser a serinei; Sm^r rezistența la streptomycină; met sinteza metioninei; F⁺ factorul sexual integrat ca episom). În interiorul cercului sunt marcate minutele cât a persistat cuplul conjugativ. ← Originea replicării.

(3) Transferuri genetice mediate de bacteriofagi: transducția fagică și conversia lizogenică.

Transducția este transferul unui fragment ADN de la o bacterie donatoare la o bacterie receptoare prin intermediul unui bacteriofag. Transductori sunt, în general, fagii temperați și ocazional mutante ale fagilor virulenți. Cu o frecvență redusă, de 10^{-6} - 10^{-5} , în cursul morfogenezei capsida include alături de genomul fagic și fragmente de ADN (cromosomal sau plasmidic) al bacteriei donatoare. Particula transductoare poate include până la 2% din cromosomul bacteriei donatoare. Ca atare, *cotransducția* – transferul concomitent a mai mult de o genă – este limitată la gene bacteriene vecine. De aceea și transducția este folosită la cartarea cromosomului bacterian sau plasmidelor. Fagii temperați sunt preferați ca transductori de gene pentru că, spre deosebire de cei virulenți, lizogenizează bacteria receptoare și îi minimizează liza. Astfel este favorizată supraviețuirea transductanților (recombinanții rezultați după transducție).

Conversia lizogenică constă în apariția unui nou caracter la bacterii care găzduiesc un profag. Noul caracter este codificat de gene fagice care rămân nereprimate. Fenomene de conversie lizogenică mai cunoscute sunt: toxigenza unor bacterii, sinteza unor antigene O ale salmonelilor. Totalitatea bacteriilor lizogene manifestă noul caracter cât timp găzduiesc profagul.

5.1.4. Semnificații biologice ale variației genetice a bacteriilor

„De aproximativ două miliarde de ani sau mai mult, bacterii sau organisme asemănătoare se reproduc. Întreaga structură a celulei bacteriene, funcționarea și chimismul ei s-au perfecționat în acest unic scop: producerea a două organisme identice cu sine cât mai bine posibil, cât mai repede posibil și în condițiile cele mai variate.”

FRANÇOIS JACOB

Variațiile genetice creează indivizi cu caractere noi. Mutațiile, cel mai frecvent, duc la pierderea de structuri și funcții. Aceasta scurtează timpul de generație al mutantelor care au avut șansa de a fi apărut într-un *mediu constant favorabil*. Ocazional mutația alterează o structură a cărei funcție persistă, dar modificată. Transferurile genetice duc la apariția de variante cu unul sau mai multe caractere suplimentare, ceea ce determină prelungirea timpului de generație și fac mai puțin economică diviziunea lor într-un *mediu constant*.

Multe din mecanismele variației genetice sunt evenimente rare. Așa sunt mutațiile, cu rata cuprinsă între 10^{-5} și 10^{-9} , apariția transformanților, cu rata între 10^{-4} și 10^{-6} , a transductanților, cu rata între 10^{-5} și 10^{-6} . Dar la scara enormelor populații bacteriene oricare dintre aceste mecanisme asigură permanent existența de indivizi cu unul sau altul din caractere modificate. Excepție fac conjugarea și transpoziția care asigură nu numai o rată mai mare a variației, ci și modificarea într-un singur timp a mai multor caractere.

Dar *ambientul bacteriilor*, departe de a fi ideal, constant, *suferă frecvent cele mai diverse modificări* cum sunt apariția sau dispariția unui nutrient, apariția sau dispariția unui agent antimicrobian, oricare ar fi acesta: antibiotice, leucocite, anticorpi etc. **Modificările mediului creează avantaje sau dezavantaje pentru diferitele variante** sau pentru populațiile parentale, sunt adevărate site selective. Presiunile selective exercitate asupra populațiilor bacteriene pot fi relative sau absolute.

Selecția relativă este *pozitivă* pentru mutantele cu timp de generație mai scurt decât al populației parentale. Așa frecvența unei mutante auxotrofe crește progresiv în prezența factorului de creștere de care a devenit dependentă și va forma, în timp, o clonă auxotrofă. Dar selecția relativă devine *negativă* când transferul genetic crește timpul de generație al variantei (transconjugant, transformant, transductant etc.). Frecvența unor asemenea variante scade progresiv prin diluție în populația parentală.

Selecția absolută o realizează un factor de mediu favorabil unei variante, dar letal pentru populația parentală: un antibiotic selectează o clonă rezistentă, barierele antimicrobiene ale gazdei selectează clone virulente. Când factorul presor selectiv dispare din mediu începe procesul de selecție relativă negativă a indivizilor cu timpul de generație mai lung. Să analizăm numai trei exemple:

Exemplul 1. Capsula, prin efect antifagocitar, este factor de virulență. Pneumococii izolați din prelevate patologice (spută, sânge, lichid cefalorahidian etc.) sunt capsulați și cultivă în formă S. Subcultivați repetat *in vitro* suferă variația S→R pentru că pierd capsula. *In vitro*, în absența fagocitelor (factor presor selectiv absolut) sunt favorizate mutantele care au pierdut capacitatea de a sintetiza polizaharid capsular, deci cu un timp de generație mai

scurt. Aceste mutante, prin selecție relativă pozitivă, vor înlocui progresiv populația parentală capsulată.

Exemplul 2. Pneumococii transformanți deveniți capsulați în experimentele lui Griffith sau Avery au timpul de generație mai lung. Ei devin clonă capsulată numai după confruntarea cu leucocitele șoarecilor care elimină populația parentală necapsulată.

Exemplul 3. Un transconjugant, transductant ori transformant devenit rezistent la anume antibiotice este favorizat de prezența în mediu a unuia sau altuia dintre aceste antibiotice. Sub presiunea selectivă absolută a antibioticului varianta rezistentă devine clonă și difuzează intra- și interspecific rezistență. În absența antibioticului din mediu începe selecția relativă negativă a indivizilor rezistenți în favoarea celor sensibili la antibiotic, care, având de exprimat mai puțină informație genetică, au timp de generație mai scurt.

Mutațiile adaugă continuu noi și noi valențe fondului genetic al superorganismului bacterian. Transpoziția și transferurile genetice asigură, funcție de necesitățile adaptării, difuziunea informației genetice intra- și interspecific, intergeneric sau chiar trans-gram (între organisme gram-pozitive și gram-negative). Un segment sau altul al fondului genetic comun este amplificat sau deamplificat prin jocul continuu al presiunilor selective fără ca vreo informație să fie complet pierdută.

În concluzie, în populațiile bacteriene există și se adaugă continuu, prin variație genetică, noi potențiale evolutive individuale. Jocul sitelor selective transformă aceste potențiale evolutive în realități evolutive direcționate: clone cu caractere modificate.

5.2. GENETICA VIRUSURILOR

„Toată cercetarea virusurilor este o ramură a geneticii”

SALVADŌR EDWARD LURIA

Variația genetică la virusuri apare prin mutații și prin interacțiuni virale. Interacțiunile între virusurile care infectează aceeași celulă pot fi genotipice sau fenotipice. Studiile de genetică a virusurilor animale cer două exigențe:

(1) *Cantificarea exactă a infecțiozității.* Una din cele mai sensibile și fiabile metode folosite în acest scop este metoda plajelor prin care determinăm concentrația unităților formatoare de plaje.

(2) *Marcheri genetici stabili* care pot fi recunoscuți printr-o anumită modificare fenotipică în raport cu virusul parental. Marcherii cei mai frecvent utilizați rezultă din mutații definite: incapacitatea de a crește la o anumită temperatură, spectrul gazdelor receptive, dimensiunea plajelor, antigene specifice de virus, rezistența la chimioterapie etc.

5.2.1. Mutația și mutante cu interes medical

Mutațiile virale apar prin substituția unei baze într-un codon (mutații punctiforme) sau prin deleții. Rata mutației la virusurile ARN (10^{-4}) mai mare decât la cele ADN (10^{-6}) este motivată prin lipsa mecanismelor de reparare a erorilor transcripției de către ARN polimeraze. Exemple de mutații virale:

- **Mutantele condițional-letale** sunt replicate numai în condiții selective de temperatură, de gazdă etc. Le selectăm prin pasaje în condiții determinate, diferite de cele oferite de gazda naturală. **Mutantele reci** sunt replicate optim la 25°C, iar **mutantele calde** la temperaturi superioare gazdei. **Mutantele dependente de gazdă** sunt selectate prin pasaje repetate pe altă gazdă decât cea naturală ale cărei celule sunt mai puțin permissive; astfel mutanta devine mai puțin virulentă pentru gazda naturală. Cel mai probabil mutația la termosensibilitate este

însoțită de restrângerea spectrului gazdelor la anumite tipuri de celule, chiar la temperatura permisivă. O mutantă rece a virusului gripal este folosită ca vaccin antigripal.

- **Mutantele rezistente la medicamente antivirale** impun chimioterapia asociată a unor viroze (e.g., în infecția cu virusul imunodeficienței umane asociem două chimioterapice).

- **Mutantele antigenice** care eludează apărarea imună a gazdei (☞ Capitolul 6).

- **Mutantele cu dimensiuni ale plajelor diferite** de cele normale (mai mici sau mai mari).

- **Mutantele interferent defectiv** apar prin deleții genetice. Virioni interferent defectivi apar prin pierderea uneia sau mai multor gene necesare pentru replicarea sau maturarea virusului (☞ mai jos).

5.2.2. Interacțiuni genetice la virusuri

Interacțiuni genetice virale apar în infecția simultană a unei celule cu două sau mai multe particule virale cu genom asemănător. Dintre aceste interacțiuni reținem: reasortarea genomică, recombinarea genetică, reactivarea genetică și complementarea.

(1) **Reasortarea de fragmente genomice** este particulară virusurilor cu genom fragmentat (virusurile gripale, rotavirusuri etc.). Explică variația antigenică majoră (comutarea antigenică sau *antigenic shift*) responsabilă de evoluția virusurilor gripale A. În cursul morfogenezei un segment genomic al virusului coinfectant poate fi închis în nucleocapsida celui alt virus.

(2) **Recombinarea genetică** apare prin ruperea și reunirea încrucișată a fragmentelor cu omologie structurală din catenele de acid nucleic. Virusul recombinant este genetic stabil și generează progeni identici. Frecvența recombinării variază cu virusurile. Recombinarea este mai eficientă la virusurile cu ADN d.c.; cele mai multe virusuri cu ARN m.c. nesegmentat nu se recombină.

(3) **Reactivarea genetică** este o variantă a recombinării cu două modalități de realizare: salvarea de marker și reactivarea prin multiplicitate.

Salvarea de marker presupune coinfecția unei celule cu un virion activ și cu unul cu genom parțial inactivat printr-o modalitate oarecare. O recombinare între genomul inactivat și genomul parental activ poate include markeri ai parentalului inactivat, care sunt astfel salvați și se manifestă în progenul viabil. Progenul care poartă markerii salvați este genetic stabil fără a fi identic cu parentalul inactivat.

Reactivarea prin multiplicitate. Prin multiplicitate înțelegem infecția determinată de o suspensie virală concentrată, încât numărul virionilor care infectează o celulă este corespunzător mai mare. Acest tip de reactivare presupune interacțiunea celulei cu o preparație virală concentrată (inocularea a sute de mii de virioni) și puternic afectată de un agent mutagen. Recombinări între acizii nucleici lezați ai parentalilor pot reconstitui un genom viral care se replică. Numărul de virioni per celulă trebuie să fie cu atât mai mare cu cât leziunile acizilor nucleici sunt mai importante.

(4) **Complementarea** se referă la fenomene genetice din aceeași celulă infectată cu două virusuri, dintre care unul sau ambele sunt defectiv. Rezultă replicarea unuia sau ambelor virusuri, care în condiții obișnuite (adică infectare separată) nu s-ar fi produs. Complementarea aduce printr-unul din virusuri produse ale unei gene în care celălalt virus este defectiv. Aceasta permite virusului defectiv să se replice. În complementare genomul ambelor virusuri rămâne neschimbat.

Când ambele virusuri coinfectante sunt defectiv pentru produsul aceleiași gene nu își completează replicarea. De aceea testul poate fi utilizat ca etapă de grupare preliminară a mutantilor condițional letali ai unui virus în vederea identificării, prin analize biochimice, a funcției genelor mutantilor.

5.2.3. Interacțiuni nongenetice la virusuri: amestecul fenotipic și interferențele.

(1) **Amestecul fenotipic** apare în cursul infecției mixte când rezultă progeni în a căror capsidă sunt încorporate aleator proteine codificate de ambii parentali. Amestecul fenotipic nu este stabil genetic pentru că după replicarea virionului mixat fenotipic progenii sunt încapsidați în capside homologe genotipului. Amestecul fenotipic a fost descris la virusurile nude ca și la cele cu anvelopă. Când virusurile sunt nude, mixajul dă capside

structural intacte și funcționale numai dacă virionii coinfectanți aparțin aceleiași familii. La virusurile cu anvelopă nucleocapsida unuia poate fi învelită în anvelopă cu glicoproteine codificate de celălalt. Rezultatul este formarea unui pseudotip, care genetic nu este stabil.

(2) Interferențe virale. Coinfecția cu două virusuri a unei culturi de celule sau a unui animal duce frecvent la inhibiția replicării unuia din virusuri. În organismul unui animal interferența este independentă de răspunsul imun. Cauzele identificate ale interferenței virale sunt: (i) *Inhibiția adsorbției pe celulă* a unuia din virusuri de către celălalt virus care poate bloca receptorii (e.g., enterovirus) sau distruge receptorii (cazul orthomyxovirusurilor). (ii) *Concurența pentru componente ale aparatului de replicare* (e.g., polimerază, factorul de întârziere a traducerii). (iii) *Producerea unui inhibitor ca interferonul* (☞ Capitolul 6) declanșată de către primul virus, care previne replicarea celui de al doilea.

După virusurile implicate, interferența poate fi heterologă, homologă sau autointerferență.

Interferența heterologă se produce între virusuri neînrudite.

Interferența homologă se produce între virusuri înrudite.

Autointerferența. Cele mai multe virusuri își pot interfera propria replicare. Cauza sunt particule interferent defectue, mutante ale virusului complet, care se manifestă când sunt utilizate inocule concentrate. Autointerferența poate duce la stabilirea infecțiilor virale persistente.

Cunoașterea interferenței virale este importantă în practica medicală pentru:

–Depistarea cultivării unui virus care nu produce efect citopatic (e.g., virusul ruzeolei, unele adenovirusuri). Celulele care replică asemenea virusuri sunt incapabile de a replica un virus sigur citopatogen, ca virusul Echo.

–Limitarea izbucnirilor epidemice de poliomielită prin introducerea în colectivitate a unui poliovirus atenuat care interferează difuziunea virusului sălbatic virulent.

–Calendarul vaccinărilor cu virusuri atenuate. Vaccinul antipoliomielitic atenuat (vaccinul Sabin) trebuie administrat în lunile ianuarie – aprilie pentru a preveni interferența cu enterovirusurile care își intensifică circulația în sezonul estivo-autumnal.

5.3. GENETICA MICROBIANĂ: DE LA CERCETAREA FUNDAMENTALĂ LA INGINERIE

„Aplicațiile potențiale ale tehnicilor de ADN recombinant sunt limitate numai de imaginația celor care le folosesc.”

J. JOHNSON

„Toate lucrurile sunt îngăduite, dar nu toate sunt de folos. Toate lucrurile sunt îngăduite, dar nu toate zidesc.”

CORINTENI I 10:23

Descoperirea hibridării acizilor nucleici, secvențierea lor și a proteinelor pe care le codifică, construirea sondelor pentru identificarea ADN sau ARN, descoperirea endonucleazelor de restricție, imaginarea reacției de amplificare genică au impact în diagnosticul microbiologic și au pus bazele ingineriei genetice.

5.3.1. Hibridarea acizilor nucleici

Tehnica de hibridare a acizilor nucleici demonstrează înrudirea sau identitatea a două microorganisme pe baza omologiei secvențelor nucleotidice. O bacterie de referință este cultivată în condiții care permit marcarea radioactivă a ADN. Bacteria testată provine dintr-un

mediu, natural sau artificial, fără componente de marcaj. ADN extras din fiecare bacterie este tratat ca în fig. 5-7 pentru a obține fragmente monocatenare, iar ADN monocatenar testat este fragmentat. După amestec, ADN dublu catenar se reface dacă fragmentele ADN ale organismului testat au secvențe nucleotidice complementare cu ADN de referință. Similar poate fi urmărită omologia acizilor nucleici virali. Tehnica hibridării acizilor nucleici este folosită în taxonomia microbiană modernă.

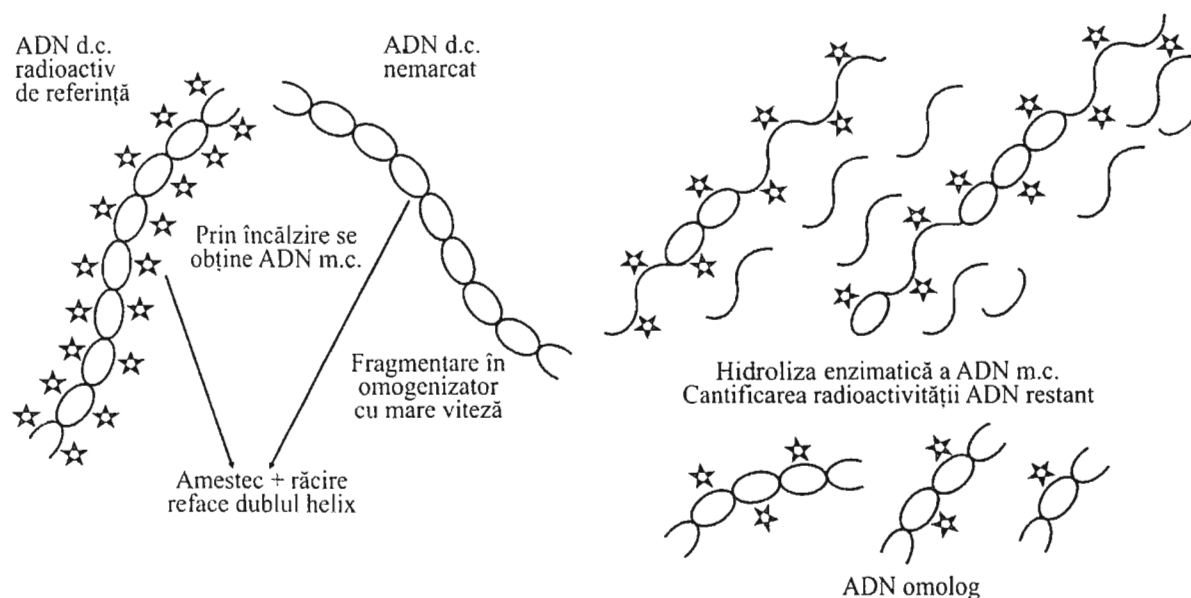


Fig. 5-7 Hibridarea ADN măsoară omologia structurală a două molecule de ADN și permite să apreciem înrudirea organismelor din care provin.

5.3.2. Sondele de acizi nucleici și aplicațiile lor în diagnosticul microbiologic

Sondele de acizi nucleici, bazate pe principiul hibridării, depistează rapid și cu mare sensibilitate microorganisme sau numai determinanți genetici ai acestora. Tehnica presupune în principiu: (1) obținerea sondelor, (2) prepararea ADN țintă, (3) hibridarea și (4) detecția sondei în ADN hibrid.

(1) *Sondele pentru hibridare sunt obținute prin:*

- Clonarea ADN cu diferite endonucleaze de restricție, metoda de rutină;
- Sinteză pornind de la secvența aminoacizilor unei proteine din care a fost dedusă secvența ADN.

(2) *ADN țintă pentru hibridare este obținut prin liza celulelor care îl conțin.*

(3) *Hibridarea poate fi realizată în fază lichidă sau solidă.*

În microbiologia clinică este mai accesibilă *hibridarea în soluție* când sonda ADN reacționează cu acidul nucleic țintă în mediul apos.

Hibridarea în fază solidă presupune adsorbția și fixarea ADN țintă pe o membrană de nylon sub forma unei picături (în engl. *dot*, de unde și numele metodei, *dot blot*). Pentru hibridare, membrana cu pata de ADN țintă este imersată în soluția sondei ADN.

Mărimea fragmentelor care hibridează poate fi determinată prin electroforeza în gel de agaroză a ADN țintă tratat cu o endonuclează de restricție. Rata migrației în câmpul electric

este invers proporțională cu mărimea fragmentelor de acid nucleic. Hibridarea este făcută prin metoda *southern blots* pentru hibridările ADN la ADN și *northern blots* pentru cele ADN la ARN. Acestea sunt însă metode de cercetare științifică.

Detecția sondei în hibrid poate fi făcută printr-o *tehnică radiochimică* (e.g., sondă ADN marcată cu ^{32}P), incomodă și rezervată numai cercetării pentru că semiviața ^{32}P este de două săptămâni. Utilizarea *moleculelor reporter* legate covalent la sonda ADN evită inconvenientul marcajului radioactiv. Reporter poate fi o enzimă care acționează asupra unui substrat cromogen sau o mică moleculă la care este legată o proteină identificată după hibridare.

Există comercializate truse cu sonde ADN pentru identificarea rapidă în prelevate clinice a unor microorganisme pretențioase sau necultivabile.

5.3.3. Amplificarea genică

Amplificarea genică este numită mai frecvent PCR (sigla de la *Polymerase Chain Reaction*). Fiecare catenă ori fragment catenar de ADN este replicată în cicluri repetate încât pornind de la cantități infinitesimale sunt obținute cantități detectabile prin sonde ADN corespunzătoare (e.g., specifică de familie, gen, specie sau tulpină cercetată). Fragmente ADN de 100-2000 perechi de baze pot fi amplificate de cca un milion de ori. Metoda are aplicații clinice mai ales în examinarea prelevatelor normal necontaminate. Identifică rapid și gene mutante de rezistență la anumite antibiotice. Tehnica este atât de sensibilă încât poate depista în țesuturi un virus latent.

5.3.4. Ingineria genetică

Bacteriile, prin multiplicarea lor rapidă și economică, au un randament impresionant de biosinteză a unor proteine virale sau ale celulelor eucariote (interferon, hormoni etc.) dacă primesc informația genetică necesară. Pentru aceasta gena cu interes trebuie clonată într-un plasmid sau în fagul λ , care fiind repliconi devin vectori adecvați. Tehnologia de clonare moleculară a ADN poate fi rezumată astfel (fig. 5-8):

- Vectorul, cel mai frecvent un plasmid cu marker(i) de rezistență la antibiotic(e), și molecula de ADN străin sunt tratate cu o endonuclează de restricție (e.g., Hind III, Hae III, Eco R1), care clivează decalat catenele ADN cu generare de capete adezive complementare.
- Tratarea cu fosfatază a vectorului rupt la nivelul situsului de restricție previne recircularizarea spontană.
- În amestec cu fragmentele de ADN străin, plasmidul vector pretrat leagă covalent fragmente de ADN și se circularizează sub controlul unei ADN ligaze pentru a da un plasmid hibrid (himeră).
- Cu vectorul hibrid este transformată o tulpină de *Escherichia coli* K12, care fiind total avirulentă previne eventuale pericole rezultate din răspândirea necontrolată a transformanților.
- Celulele transformante sunt selectate prin antibioticul corespunzător determinantului de rezistență purtat de plasmidul vector.
- Populația bacteriană rezultată după cultivare conține o „bibliotecă de plasmide” care poartă clonate variatele fragmente de restricție rezultate din ADN donor.
- Urmează, în final, selectarea dintre transformanți a acelor care exprimă genele cu interes (e.g., hormon, interferon, un anumit antigen).

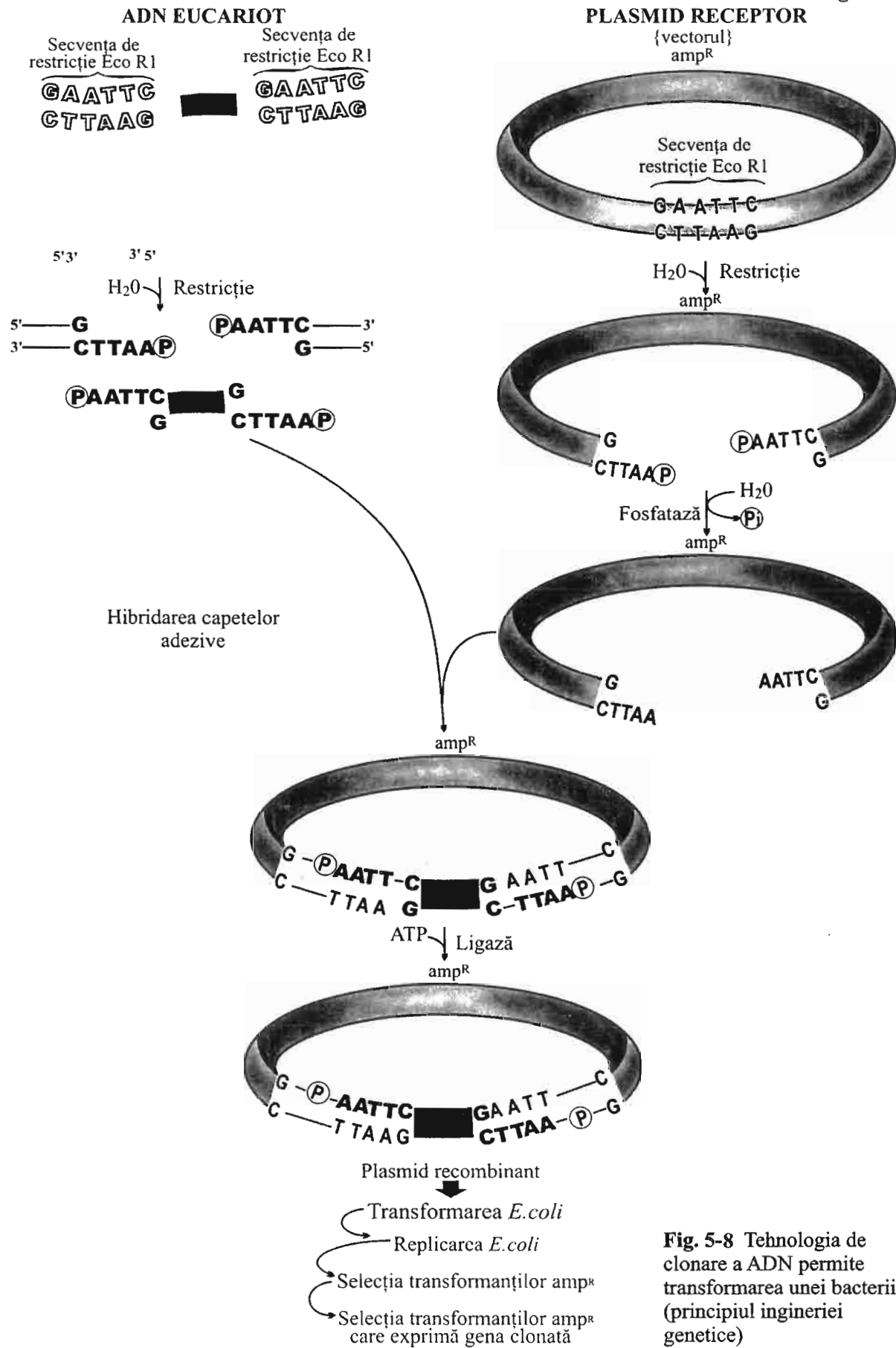


Fig. 5-8 Tehnologia de clonare a ADN permite transformarea unei bacterii (principiul ingineriei genetice)

Planșe

CAPITOLELE

5 și 6

220
CAPITOLELE

PLANȘA 5.1

5.1 TRANSPOZIȚIA ȘI CONJUGAREA BACTERIANĂ

1 Transpoziția. Schema posibilităților transpoziției.

2 A Autoradiografia hibridului dintre plasmidele R pKRE (Ap^r) și p LU121 /(Tc^r). **B** Schema hibridului: mcADN monocatenar, dcADN dublu catenar, Ap^r și Tc^r transpozonii de rezistență la ampicilină și respectiv la tetraciclină, IS secvență de inserție (R. Lauf și colab., 1981)

3 B Conjugarea bacteriană, electronomicrografii: **A** pereche specifică formată prin fixarea pilului sexual al bacteriei donatoare (bacteria fimbriată) pe bacteria receptoare (bacteria nonfimbriată); **B** pereche eficientă formată prin retractarea pilului sexual. Bacteria donatoare este fimbriată (R. Y. Stainer, 1970)

defavoarea gazdei.

Oportunismul reflectă cel mai bine întrepătrunderea și dinamica relațiilor din cadrul simbiozei: un microorganism comensal, mutualist ori saprofit al mediului extern poate deveni, pentru o perioadă, parazit, funcție de condițiile asocierii.

Afectarea gazdei ca expresie a dinamicii relațiilor microorganism – gazdă. *Microorganismele parazite își îmbolnăvesc gazda, sunt patogene. Cele comensale și mutualiste sunt nepatogene iar cele oportuniste sunt condiționat patogene.* Această clasificare schematică ține însă ascunsă complexitatea relațiilor microorganism – gazdă.

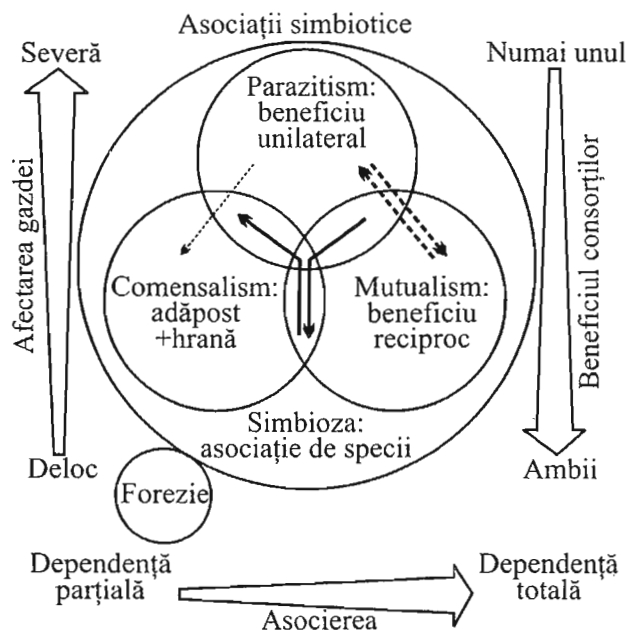


Fig. 6-1 Interferența și dinamica relațiilor microorganism-gazdă umană

- ↔ Infecția cu microorganisme oportuniste poate fi repetată
- Evoluția de la infecție spre portaj de microorganisme patogene
- ⋯ Infecția latentă și evoluția ei reversibilă
- Oportunism

(1) **Microorganismele patogene** atacă eficient *gazda normoreactivă* pe care, de cele mai multe ori, o îmbolnăvesc. După apariția efectorilor imunitari sunt posibile trei eventualități: distrugerea și eliminarea microorganismului agresor, trecerea la mutualism sau comensalism.

(i) *Distrugerea microorganismului agresor duce la vindecarea bolii.*

(ii) *Trecerea la mutualism.* Bolnavul se vindecă dar găzduiește persistent microorganismul patogen în focare profunde, care nu comunică cu exteriorul. Imunitatea este întreținută numai prin această conviețuire (profitul gazdei). Ocazional echilibrul este rupt și gazda se reîmbolnăvește.

(iii) *Trecerea la comensalism.* Bolnavul se vindecă, dar continuă să găzduiască microorganismul patogen în cavități de unde îl elimină în mediul extern. Așa gazda devine purtătoare sănătoasă de microorganism patogen, situație din care nu are nici un profit.

(2) **Microorganismele condiționat patogene și cele accidental patogene** sunt comensale ori mutualiste ale gazdei sau saprofite ale mediului extern ajunse fortuit în țesuturi prin efracția barierelor antimicrobiene. Ele își atacă gazda numai când:

- apar disfuncții în sistemul barierelor sale antimicrobiene sau
- variația genetică le conferă capacități patogene suplimentare. Odată cu vindecarea bolii revin la relația anterioară.

Tot mai multe microorganisme, pe care altădată le numeam nepatogene, știm astăzi că pot îmbolnăvi o gazdă compromisă. Aceasta nu din cauza microorganismelor, cât din cauza

diversificării și agravării deficitelor de apărare antimicrobiană (imunodepresii, imunosupresii, infecția cu virusul imunodeficienței umane etc.). Asemenea microorganisme le putem numi accidental patogene.

6.2. COLONIZAREA MICROBIANĂ A OMULUI. MICROBIOTA INDIGENĂ

„...microorganismele indigene nu pot fi considerate în termeni absoluți. În funcție de anumite circumstanțe, fiecare component al microbiotei rezidente poate avea capacitatea de a ajuta sau de a aduce prejudicii gazdei.”

P. A. MACKOWIAK

In utero embrionul și fătul se dezvoltă la adăpost de microorganisme. *Intra-* și *postpartum* începe contaminarea continuată de colonizarea microbiană a învelișurilor și unor cavități. În evoluția fenomenului, microorganismele implicate le numim: specii pionier, specii de tranziție și comunitate climax.

- **Speciile pionier** sunt primele care, după contaminare, asimilează condițiile de găzduire și proliferază mai repede decât sunt eliminate. Modificările pe care le produc în biotopurile învelișurilor le limitează creșterea.

- **Speciile de tranziție** profită de modificarea condițiilor de găzduire, indusă de speciile pionier, și se înmulțesc la rândul lor.

- **Comunitatea climax** constituie o unitate ecologică, în echilibru dinamic cu condițiile de găzduire și noii contaminanți, pe care o numim **microbiota indigenă** (sinonime: **microbiota normală**, flora normală, indigenă sau naturală).

Ca exemplu, să urmărim colonizarea tubului digestiv. Lactobacilii, cu care nou-născutul se contaminează la trecerea prin vagin, sunt specii pionier. Ei determină scăderea pH-ului până la limite favorabile speciilor de *Bifidobacterium*, care realizează prima succesiune după 1–2 zile de la naștere. Progresiv se adaugă *Escherichia coli*, enterococii etc. Succesiunea majoră, cu înmulțirea masivă a bacteriilor anaerobe nesporulate, se produce odată cu diversificarea alimentației sugarului. Stadiul de climax al microbiotei digestive este atins la înțărare.

Limitele colonizării sunt stabilite de barierele antimicrobiene ale gazdei. Așa apare zonarea organismului, în raport cu condiția microbiologică, de la steril la contaminat și colonizat în diferite grade.

(1) **Zonele normal sterile:** mediul intern, țesuturile, cavitățile seroase. Ocazional microorganisme din gură sau intestin trec în curentul sanguin (e.g., în cursul periajului gingivo-dentar sau a mișcărilor colonului), dar sunt repede și eficient îndepărtate încât rămân ne semnificative pentru sănătatea gazdei normoreactive.

(2) **Zone ocazional contaminate, dar necolonizate:** sinusurile paranasale, urechea medie și etajul infraglotic al căilor respiratorii, căile biliare, căile urinare de la rinichi la uretra proximală, căile genitale interne.

(3) **Zone periodic contaminate, dar necolonizate sau abortiv colonizate:** stomacul, duodenul, jejunul.

(4) **Zone normal colonizate:** tegumentele, conjunctiva, nările, naso- și orofaringele, vaginul, uretra distală, ileonul terminal și colonul.

Microbiota indigenă și contaminarea curentă a suprafețelor. Distingem: (i) **Microbiota rezidentă**, un ansamblu de microbiocenoze în echilibru dinamic și caracteristice pentru o anumită suprafață. (ii) **Microbiota flotantă** care contaminează și colonizează abortiv (ore, zile, săptămâni) și superficial învelișurile și cavitățile cele mai expuse ale gazdei (tabelul 6-1).

Caracterizarea generală a microbiotei indigene. Bacteriile și unii funghi constituie majoritatea microbiotei indigene. Bacteriile anaerobe le domină pe cele aerobe sau facultative în proporție de 10:1, pe tegument și suprafețele mucoase în contact direct cu aerul, până la 1000:1, în diferite cavități. Protozoare apar în tractusul digestiv, mai ales în condiții de promiscuitate.

Semnificațiile biologice ale microbiotei anaerobe. Presiunea parțială a oxigenului, care îi măsoară concentrația într-un gaz, este de 160 mm Hg (21%) în aer și concentrații corespunzătoare se află în sângele capilar și țesuturile irigate normal. În aceste condiții bacteriile strict anaerobe, lipsite de superoxid-dismutază, nu se dezvoltă. Când un electrod de oxigen este plasat în gură apoi buzele sunt închise, presiunea parțială a acestui gaz este de 12 – 14% deasupra limbii și de numai 1% pe mucoasa jugală în dreptul molarilor sau în crevasele gingivale. Condiția este inițiată de speciile aerobe și facultativ anaerobe care consumă oxigenul și scad potențialul de oxido-reducere până la valori optime dezvoltării bacteriilor strict anaerobe. Bacteriile anaerobe nesporulate sunt selectate de gazdă pentru cel puțin trei avantaje pe care i le oferă: • sunt bacterii cu echipament incomplet de patogenitate, • după translocarea prin epiteliile mucoaselor nu supraviețuiesc în mediul intern ori țesuturi și • antagonizează eficient microorganismele aerobe și facultative cu potențial patogen mai mare.

6.2.1. Microbiota tegumentului

Tegumentul oferă o varietate limitată de nutrienți (keratină, sebum și secreție sudorală) în condiții de umiditate redusă și pH ușor acid. Densitatea microbiotei, exprimată în număr de UFC/cm², variază cu zona considerată: 10¹–10³ pe trunchi și brațe, 10³–10⁶ pe față, 10⁵–10⁶ pe scalp și 10⁶ la nivelul pliurilor. Comparativ cu unele membrane mucoase, pe care densitatea microbiotei este de mii și sute de mii de ori mai mare, tegumentul, ca habitat microbial, a fost metaforic numit „deșert uleios”. Numai trei habitate sunt normal colonizate: stratul cornos și celulele descuamative, invaginațiile epidermice (unitățile pilo-sebacee, glandele sudoripare, pliurile periungveale, crevasele epidermice) și fanerele. Alte două habitate virtuale, dermul și straturile epidermice bazal până la cornos, rămân necolonizate.

Microbiota flotantă este foarte diversă, superficială și îndepărtată eficient prin spălare și periaj cu apă și săpun. Cuprinde microorganisme ubicuitare în aer, apă, sol și suprafețele cu care venim în contact: bacili gram-pozitivi sporulați aerobi (*Bacillus* spp.) și anaerobi (*Clostridium* spp., mai ales *C. perfringens*), bacili gram-negativi aerobi (*Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia* etc.), facultativ anaerobi (bacili coliformi), coci gram-pozitivi aerobi (*Aerococcus viridans*) sau facultativi (enterococi).

Microbiota rezidentă variază cu suprafețele anatomice, îmbrăcămintea, vecinătatea orificiilor naturale ale cavităților care găzduiesc o microbiotă specifică (gură, vagin etc.). Este dominată de microorganisme gram-pozitive. Constant prezenți și în număr mare sunt stafilococii (planșa 6.1,3).

- **Cocii gram-pozitivi facultativ anaerobi** (*Staphylococcus* spp.), **anaerobi** (*Peptostreptococcus* spp.) și **aerobi** (*Aerococcus viridans*, *Micrococcus* spp.). Dintre stafilococi predomină cei coagulazo-negativi, mai ales *S. epidermidis*. *Staphylococcus aureus* apare pe tegument la 20 – 80% din persoanele normale asociat fiind cu portajul nasal. Stafilococii au tropism pentru unitățile pilo-sebacee datorită lipazelor pe care le produc și prin care hidrolizează sebumul cu formare de acizi grași responsabili de pH-ul 4,5 – 5,0 al tegumentului. Constant prezenți, dar în număr redus, urmare a autoînsămânțării din orofaringe, sunt streptococii viridans și cei nehemolitici. Mai rar apare, din aceeași sursă, *Streptococcus pyogenes*.

- **Bacilii gram-pozitivi** difterimorfi aerobi (*Corynebacterium* spp.) și anaerobi (*Propionibacterium* spp.) sunt constant prezenți.

- **Fungii.** Levuri lipofile (*Malassezia* spp.) sunt găzduite mai des în orificiile unităților pilosebacee și ale glandelor sebacee independente, mai profund urmând stafilococii și cel mai profund *Propionibacterium* spp.

Tabelul 6-1 Microbiota indigenă a adultului sănătos: concentrațiile¹⁾ și frecvența²⁾ principalelor specii (T. Rosebury, 1965; Drasar și Hill, 1974; Tashjian și colab., 1976; P. R. Murray, 1998).

Specii	Tegument	Nări	Urechea externă	Nasofaringe	Orofaringe	Colon	Vagin
<i>Acinetobacter</i> spp.		+		+	+	+	+
<i>Actinobacillus</i> spp.		0		0	+	0	0
<i>Actinomyces</i> spp.		0		+	+	7,8	+
						9,2/g	
<i>Aerococcus viridans</i>		+		0	0	0	0
<i>Bacillus</i> spp.		+		0	+	+	0
<i>Bacteroides</i> spp.		0		+	+	100	+
						11,3/g	
<i>Bifidobacterium</i> spp.		0		±	+	74	+
						10,2/g	
<i>Burkholderia cepacia</i>		+		+	0	0	0
<i>Campylobacter</i> spp.		0		±	+	+	0
<i>Candida</i> spp.		+		+	6-49	14-31	28-46
					0-5/g	0-5,4/g	
<i>Capnocytophaga</i> spp.		0		0	+	0	+
<i>Cardiobacterium hominis</i>		0		0	+	0	+
<i>Clostridium</i> spp.		0		0	+	+	+
<i>C. difficile</i>		0		0	0	+	0
<i>C. perfringens</i>		±		0	±	100	18
						9,8/g	8,2/g
<i>Corynebacterium</i> spp.		53		+	+	+	31-74
		5/cm ²					7,2/g
<i>Eikenella corrodens</i>		0		+	+	0	0
<i>Enterococcus</i> spp.		0		0	4-22	99	27
						8,9/g	7,0/g
<i>Escherichia coli</i>		0		0	+	100	20-27
						7-9/g	6,4/g
<i>Enterobacteriaceae</i> ³⁾		±		+	+	+	+
<i>Fusobacterium</i> spp.		0		0	14-28	18	23
					3-5/g	8,4/g	8,5/g
<i>Gardnerella vaginalis</i>		0		0	0	0	+
<i>Gemella</i> spp.		0		0	+	+	0
<i>Haemophilus</i> spp.		0		43-90	25-100	±	+
<i>Kingella</i> spp.		0		0	+	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp.		0		0	95	78	45-86
						9,6/g	8,2/g
<i>Leptotrichia buccalis</i>		0		0	+	0	±
<i>Malassezia</i> spp.		+		0	0	0	0
<i>Micrococcus</i> spp.		+		0	0	0	0
<i>Microsporum</i> spp.		+		0	0	0	0
<i>Mobiluncus</i> spp.		0		0	0	0	+
<i>Moraxella</i> spp.		0		+	+	0	0
<i>Mycoplasma</i> spp.		0		0	+	0	+
<i>Neisseria</i> spp.		0		10-97	95-100	0	+
					5-7/g		
<i>Peptostreptococcus</i> spp.		+		0	++	94	86
						10,7/g	8,7/g
<i>Porphyromonas</i> spp.		0		+	+	+	+
<i>Prevotella</i> spp.		0		0	+	+	+

Tabelul 6-1 (continuare)

Specii	Tegument	Nări	Urechea externă	Nasofaringe	Orofaringe	Colon	Vagin
<i>Propionibacterium</i> spp.		45-100 6/cm ²		0	+	+	14 8,6/g
<i>Proteus</i> spp.		0		0	0	+	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0/+ ⁴⁾		±	+	+	0
<i>Rothia dentocariosa</i>		0		0	+	0	0
<i>Selenomonas</i> spp.		0		0	+	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>		5-24		++	36-42	11 5,4/g	5-15 6,7/g
Stafilococi coagulazo-negativi		88-100 2-6/cm ²		++	75-100 1-4/g	31 7,4/g	28-94 7,5/g
<i>Stomatococcus mucilaginosus</i>		0		0	+	0	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>		0		0	+	+	+
<i>S. pneumoniae</i>		0		0-50	8-71	0	±
<i>S. pyogenes</i>		0		0-30	5-30	0	0
Streptococi grup C, F sau G		0		0-9	3-5/g 5-30	16	+
Streptococi viridans		±		24-99	3-5/g 100 6-8/g	+	14 6,6/g
<i>Treponema</i> spp.		0		0	+	28	+
<i>Ureaplasma urealyticum</i>		0		0	0	0	+
<i>Veillonella</i> spp.		0		0	+	+	0
<i>Weeksella virosa</i>		0		0	0	0	+

1) Concentrația exprimată ca log₁₀ (e.g., 7-9/g corespunde la 10⁷-10⁹/g).

2) Codificarea frecvenței: ++ foarte frecvent, + comun, ± rar, 0 izolare atipică; cifrele fără alte mențiuni indică frecvența procentuală.

3) Altele decât *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella* sau *Yersinia*.

4) *P. aeruginosa* este comună în conductul auditiv extern, atipică pe tegument.

Specii de *Candida* apar ocazional, mai bine reprezentate fiind la nivelul pliurilor umede ca cele submamare, balanopreputial, perineale.

Keratina straturilor epidermice superficiale favorizează dezvoltarea fungilor dermatofiti (*Microsporum* spp., *Trichophyton* spp.).

Microorganismele găzduite în unitățile pilo-sebacee, glandele sudoripare sau crevasele epidermice sunt numai tranzitoriu îndepărtate prin spălare și periaj din locația lor superficială. Sebumul și transpirația le aduc în scurt timp la suprafață.

6.2.2. Microbiota conjunctivei

Conjunctiva și corneea, deși expuse continuu contaminării cu microorganisme tegumentare, nasale sau vehiculate prin degete, pulberi și corpi străini, rămân, grație spălării prin secreția lacrimală, cu încărcătură microbiană redusă. De pe conjunctiva normală izolăm:

- Foarte frecvent, până la 94% din persoanele investigate, stafilococi coagulazo-negativi;

- Ocazional, în ordinea frecvenței de izolare, apar bacili difterimorf, specii de *Candida*, *Staphylococcus aureus*, variați streptococi, neisserii nepretențioase, specii de *Haemophilus*, enterobacteriacee, pseudomonade, bacili antracoizi, variați fungi oportuniști sau saprofiti;

- Rar sunt izolate bacterii anaerobe, nesporulate sau sporulate, micobacterii saprofite ori condiționat patogene.

6.2.3. Microbiota căilor aero-digestive superioare

6.2.3.1. Nările fac tranziția între tegument și mucoasa respiratorie a nasofaringelui. Varietatea microorganismelor găzduite peren este mică, dar realizează densități mai mari decât pe tegument: până la $10^7/\text{cm}^2$. Numeroși sunt stafilococii coagulazo-negativi și *S. aureus*, *Corynebacterium* spp. și *Propionibacterium* spp. Nările sunt principalul rezervor de stafilococi. Microbiota flotantă a nărilor este comună, variată și în număr redus.

6.2.3.2. Nasofaringele are o microbiotă mai complexă, dominată de *Streptococcus* spp. și *Neisseria* spp. Streptococii viridans sunt constant izolați, speciile cele mai comune fiind *S. salivarius*, *S. parasanguis* și *S. pneumoniae*. Neisseriile izolate din nasofaringe includ cca 12 specii dintre care cele mai frecvente sunt: *N. subflava*, *N. sicca*, *N. cinerea*, *N. mucosa* și *N. lactamica*. *Neisseria meningitidis* este izolată de la <10% până la >95% din persoanele normale, cu cea mai mare prevalență în colectivitățile închise de recruți în care evoluează o epidemie de boală meningococică. Frecvent coexistă mai multe specii de *Neisseria*.

Adesea izolați, dar în cantități mai mici, sunt cocobacili și bacili gram-negativi: *Moraxella catarrhalis*, *Kingella* spp., *Haemophilus influenzae* (mai ales tulpini necapsulate) și *Cardiobacterium hominis*.

6.2.3.3. Orofaringele găzduiește peste 200 specii de microorganisme într-un complex de ecosisteme particularizate prin condiții fizico-chimice, de nutriție, de retenție, de eliminare și printr-o dinamică neîntâlnită în alte zone ale organismului. Erupția dentară aduce noi habitate: dinții și crevasele gingivale, care dispar progresiv cu edentația, de la cea parțială până la cea totală. Cariile dentare, lucrările stomatologice (coroane, proteze etc.) înseamnă tot atâtea habitate artificiale. Nutrienții la dispoziția microbiotei orofaringiene sunt reprezentați de dietă, care variază larg sub raportul compoziției, consistenței și retentivității la suprafețele orale, salivă, celulele de descumare epitelială, lichidul crevicular, substanțe elaborate de bacterii.

Densitatea microbiotei orofaringiene variază de la 10^{11} – 10^{12} UFC/g în crevasele gingivale și 10^9 UFC/g pe mucoasele orale până la 10^8 UFC/mL de salivă. Bacteriile anaerobe le depășesc pe cele aerobe în proporție de 100:1.

Obiceiurile alimentare și igiena locală modulează continuu ecosistemele orofaringiene. Considerăm următoarele habitate: mucoasele jugală, palatală și faringiană, limba, dinții și crevasele gingivale, criptele amigdaline și saliva. Deși între aceste habitate este o continuitate anatomică, specii ale aceluiași genuri le colonizează diferit. Discontinuitatea microbiocenozelor orofaringiene ține de specificitatea liganzi-receptori și de condițiile găzduirii.

- **Cocii gram-pozitivi.** Încă la 4-12 ore după naștere variate specii de streptococi α -hemolitici și nehemolitici, numite generic streptococi orali, contaminatează și colonizează orofaringele ca cele mai importante specii persistente toată viața. Sursă a streptococilor orali de colonizare neonatală sunt vaginul, orofaringele și tegumentele mamei și persoanelor din anturaj. Uniform răspândit este *Streptococcus oralis*, care realizează concentrații moderate în toate habitatele orofaringiene. În placa dentară supragingivală constant prezenți sunt *S. sanguis*, în cantități mari, *S. mutans* și streptococi din grupul *anginosus* (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*), în cantități mici până la mari. Singurul care ajunge, în cantități mici, și în placa dentară subgingivală este *S. sanguis*. Mucoasele jugală și palatină sunt colonizate de *S. vestibularis* și *S. sanguis*. Concentrații mari realizează în salivă și pe limbă *S. salivarius*. Alți streptococi care colonizează orofaringele, dar neselectiv, sunt *S. pneumoniae*, mai frecvent la copii și la adulți din colectivitățile de copii, streptococi din grupele A, C, F și G.

Alți coci gram-pozitivi găzduiți constant în orofaringe sunt *Stomatococcus mucilaginosus*, specie aerobă care formează colonii mucoide aderente la mediu, și *Peptostreptococcus* spp., strict anaerobe. Ocazional izolată este *Gemella morbillorum*, specie facultativ anaerobă.

- **Cocii și cocobacilii gram-negativi.** Diplococii gram-negativi cel mai bine reprezentați sunt anaerobi, *Veillonella* spp., care reprezintă până la 15% din microbiota orofaringiană. Pe limbă, pe mucoasele orale și în salivă sunt prezente *V. atypica* și *V. dispar*. În placa dentară, în crevasele gingivale și mai ales în cariile dentare abundă *V. parvula*. *Haemophilus* spp. sunt prezente la cca 90% din persoanele normale și reprezintă până la 5% din totalul microbiotei orofaringiene. Alți coci și cocobacili gram-negativi ai orofaringelui includ: *Neisseria* spp., *Moraxella* spp., *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* și *Actinobacillus* spp.

- **Bacilii gram-pozitivi filamentoși** ai genului *Actinomyces* (*A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. odontolyticus* și *A. meyeri*) domină, alături de streptococi, microbiota orofaringiană: însumează 20% dintre bacteriile salivei și limbii, 35% dintre ale crevaselor gingivale și cca 40% dintre cele ale plăcii dentare. Cripte amigdalene sunt colonizate cu *A. israelii* și *A. naeslundii*.

- **Bacilii gram-pozitivi anaerobi** (*Eubacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Propionibacterium* spp.) și **aerobi** (*Corynebacterium* spp., *Rothia dentocariosa*).

- **Bacilii gram-negativi anaerobi** predomină în orofaringe și includ specii de *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium* și *Selenomonas*. Îi găsim în toată gura și în criptele amigdalene. Câteva specii au tropism particular pentru crevassele gingivale: *F. alocis*, *F. sulci*, *Selenomonas* spp., *Capnocytophaga* spp., *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*.

- **Treponeme** din variate specii abundă în crevassele gingivale.

- **Bacilii gram-negativi aerobi** (*Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp.) și **facultativ anaerobi** (*Enterobacteriaceae*) sunt flotanți, în număr redus, în orofaringele persoanelor normale.

- **Levurile** sunt singurii reprezentanți ai fungilor în gură. Frecvență este *Candida albicans*, alte specii sunt fie în număr mai mic (e.g., *Cryptococcus albidus*), fie mai rare.

- **Protozoare** găzduite în gură sunt *Entamoeba gingivalis* și *Trichomonas tenax*.

Placa dentară este un depozit format prin agregare bacteriană într-o matrice polizaharidică aderentă la suprafața dinților printr-o peliculă glicoproteică.

(1) *Película* este inițial formată din glicoproteine salivare insolubilizate și adsorbite pe suprafața smalțului dentar. Insolubilizarea glicoproteinelor rezultă prin pierderea acidului sialic sub acțiunea neuraminidazei produsă de unele bacterii din salivă, ca *Prevotella melaninogenica*, *P. oralis*, *Fusobacterium* spp. Pelicula se îngroașă progresiv prin adsorbția de noi molecule salivare: fosfoproteine, sulfoglicolipide, glicoproteine de grup sanguin etc. Grosimea ei crește de la cca 100 nm după 2 ore de expunere la salivă până la 500 – 1000 nm după 24 ore. Colonizarea peliculei începe odată cu formarea sa. Specii pionier sunt *S. sanguis* și alți streptococi orali (exclusiv *S. salivarius* lipsit de adezine pentru peliculă), *Neisseria* spp., *Moraxella* spp. După 24 ore apar asociate bacterii din genurile *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Actinomyces* și *Rothia*.

(2) *Matricea*, formată din polizaharide extracelulare bacteriene și glicoproteine salivare precipitate, include bacterii, metaboliți bacterieni, celule epiteliale scuamoase și enzime. Cantități mari de polizaharide extracelulare (glucani, levani etc.) produc streptococi orali, *Neisseria* spp. și unele actinomicete.

Sucesiuni de bacterii sunt înglobate în matrice. Potențialul de oxido-reducere al plăcii, inițial de +200 mV, scade către ziua a 7-a la -110 mV. Numărul bacteriilor anaerobe, specii de *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, crește, iar proporția organismelor din genurile *Streptococcus*, *Neisseria*, *Moraxella* și *Rothia* scade și se stabilizează între zilele 5–7. Monostratul bacterian inițial format din coci și bacili este înlocuit progresiv cu agregate bacteriene filamentoase: streptococi grupați în jurul bacteriei filamentoase *Corynebacterium matruchotii* formează structurile „în știulete de porumb” vizibile în electronimicrografiile de baleiaj. După cca două săptămâni placa este matură cu o microbiotă climax care cuprinde peste 200 de specii cu 10^8 UFC/mm³ de placă umedă. Dintre speciile identificate în placa matură domină:

- Bacili gram-pozitivi (*Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Eubacterium* spp., *Rothia dentocariosa*) și actinomicete cu alte bacterii filamentoase (*A. viscosus*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. israelii*, *Corynebacterium matruchotii*).

- Bacili gram-negativi (*Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Capnocytophaga ochracea*, *Haemophilus aphrophilus*, *H. parainfluenzae*, *H. segnis*, *Eikenella corrodens*) inclusiv forme filamentoase (*Fusobacterium nucleatum*, *Leptotrichia buccalis*) ori helicoide (*Campylobacter* spp.).

- Specii de *Treponema* sunt mai bine reprezentate în placa subgingivală.

Placa dentară este o entitate dinamică supusă abraziunii prin masticarea alimentelor dure sau prin periaj, dar se reface continuu, cu atât mai repede cu cât există mai multe arii stagnante, retentive. Placa veche se calcifică și formează tartrul dentar.

6.2.4. Microbiota tractusului gastrointestinal

6.2.4.1. Zonele de tranziție sunt: esofagul, stomacul, duodenul, jejunul și ileonul.

Esofagul. Bacterii și levuri orofaringiene pot fi izolate de la acest nivel, dar știm prea puțin referitor la persistența și cantitatea lor.

Stomacul normal cu bariera sa acidă este o zonă neospitalieră în care pot supraviețui, în tranzit, numai bacteriile acido-tolerante ca specii de *Lactobacillus*, *Streptococcus*,

Relațiile microorganism-gazdă umană

Mycobacterium. Capacități particulare de supraviețuire în lumen și de colonizare a epiteliului gastric sub stratul de mucus are *Helicobacter pylori*.

Duodenul găzduiește *à jeun* până la 10^4 bacterii/mL, predominant bacterii anaerobe, strict ori aerotolerante, ale orofaringelui: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*. În **jejun** și **ileon** sunt prezente 10^5 – 10^8 bacterii/g, predominant *Lactobacillus* și *Enterococcus*. În **cec** bacteriile ajung la 10^8 – 10^{10} /g, în majoritate specii anaerobe din colon (planșa 6.1,1).

6.2.4.2. Colonul este organul cu cea mai luxuriantă microbiotă apreciată la 10^{11} – 10^{12} organisme/g de conținut, ceea ce reprezintă 10–30% din masa fecală; au fost identificate microorganisme din cca 300 de specii. Bacteriile anaerobe reprezintă 96–99%, iar cele facultativ anaerobe și aerobe 1–4%.

- Dintre **bacteriile anaerobe** dominante sunt bacteroidaceele cu 10^{11} organisme/g, *Eubacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. și *Bifidobacterium* spp., fiecare cu câte 10^{10} UFC/g. *Bacteroides thetaiotaomicron* este specia cea mai numeroasă, *B. fragilis* are echipament de patogenitate mai complet decât celelalte specii ale genului. Alte specii de *Bacteroides* frecvent izolate sunt *B. capillosus*, *B. coagulans*, *B. putredinis* și *B. ureolyticus*. Dintre cele 19 specii de *Eubacterium* identificate în colon comune sunt: *E. aerofaciens*, *E. contortum*, *E. cylindroides*, *E. lentum* și *E. rectale*. Din colon au fost izolate nouă specii de *Bifidobacterium*, mai frecvent: *B. bifidus*, *B. longum* și *B. adolescentis*. Unele specii de *Bacteroides* sunt izolate mai frecvent de la copii decât de la adulți. Variate specii de peptostreptococi sunt izolate aproape de la toate persoanele normale: *P. magnus*, *P. prevotii*, *P. asaccharolyticus* etc. *Clostridium perfringens* este constant izolată în cantități de 10^9 /g de fecale. Alte bacterii anaerobe mai puțin numeroase și izolate de la cca 1/3 din persoanele normale sunt: *Veillonella parvula*, *Gemella morbillorum*, specii de *Fusobacterium*, *Porphyromonas* și *Prevotella*. *Clostridium difficile* și alte clostridii sunt ocazional rezidente ale colonului. *Treponema* spp. necultivabile există în fecale.

- Dintre **bacteriile facultativ anaerobe** *Escherichia coli* și *Enterococcus* spp. sunt izolate de la toate persoanele normale la care realizează fiecare cca 1% din microbiota colonului. Dintre cele 10 specii de enterococi cel mai frecvent izolate sunt *E. faecalis* și *E. faecium*. *Enterobacteriaceae* comun izolate din fecale, dar în cantități mai mici decât *E. coli*, sunt specii de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* ș.a. Specii de *Haemophilus* pot fi prezente în număr mic.

- **Bacteriile aerobe** ale colonului includ *Pseudomonas aeruginosa* și alte pseudomonade, care în mod normal sunt izolate în număr mic, dar la nou-născut și sugari pot realiza colonizări importante.

- **Levurile** sunt reprezentate în microbiota colonului mai ales de *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* și *C. tropicalis*. În colon au fost identificate numeroase specii de **protozoare**, dar prezența lor ține mai ales de conviețuirea în condițiile de promiscuitate proprii zonelor subdezvoltate.

Dintre bacteriile flotante ale colonului remarcăm bacilii gram-pozitivi sporulați aerobi (*Bacillus* spp.) și anaerobi (unele clostridii) precum și unii bacili acidorezistenți (*Mycobacterium* spp.).

6.2.5. Microbiota tractusului genito-urinar

6.2.5.1. Vaginul. Prezența glicogenului, important nutrient, în celulele epiteliului vaginal, controlată de hormonii estrogeni, face ca microbiota vaginală să treacă prin patru stadii evolutive: de la naștere până la eliminarea hormonilor estrogeni materni și dispariția, odată cu ei, a glicogenului din epiteliul vaginal; prepubertatea; maturitatea sexuală marcată de secreția hormonilor estrogeni și reapariția glicogenului în epiteliul vaginal; postmenopauza.

În primele săptămâni de viață vaginul este colonizat de lactobacili, care fermentează glicogenul și generează pH-ul acid al mucoasei vaginale.

După eliminarea hormonilor estrogeni materni până la pubertate, în condițiile unui pH neutru, vaginul este colonizat de coci și bacili proveniți de pe tegumentul perineal.

Reapariția glicogenului și persistența lui pe toată durata maturității sexuale schimbă radical condițiile de găzduire. Acum microbiota vaginală devine bogată (10^9 bacterii/g) și diversă. Lactobacilii predomină, favorizați prin capacitatea de a fermenta glicogenul și de acido-toleranță față de pH-ul 3,8–4,5 pe care îl generează. Specii mai frecvent izolate sunt: *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. cellobiosum*. Pe frotiuri din raclatul mucoasei

vaginale normale lactobacilii apar ca bacili mari gram-pozitivi, care abundă pe și în jurul celulelor epiteliale scuamoase (așa numiții bacili ai lui Döderlein). Alți anaerobi comun izolați din vagin sunt *Bifidobacterium* (6 specii), *Peptostreptococcus* (6 specii), *Prevotella bivia* și *P. disiens*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Propionibacterium* spp. (mai ales *P. propionicus*), *Fusobacterium* spp. și *Clostridium* spp. (predominant *C. perfringens*). Ocazional și în cantități mici pot fi izolate *Actinomyces* spp., *Mobiluncus* spp. și *Leptotrichia buccalis*. Dintre treponemele neapatogene trei specii au fost izolate din vagin: *T. phagedenis*, *T. refringens* și *T. minutum*.

Bacterii facultativ anaerobe sau aerobe prezente în vagin sunt: stafilococi coagulazo-negativi, *Corynebacterium* spp., streptococi viridans și β-hemolitici (grup B, C și G), *Neisseria* spp., inclusiv *N. meningitidis*, *Enterobacteriaceae*. Frecvent, dar în număr mic, au fost izolați *Haemophilus influenzae*, *H. parainfluenzae* și *Gardnerella vaginalis*. O specie izolată numai din vaginul femeilor active sexual este *Weeksella virosa*.

Micoplasme frecvent prezente în vagin sunt: *M. hominis*, *M. genitalium*, *M. fermentans*, *M. primatum*, *M. spermatophilum*, *M. penetrans*.

Levurile, mai ales *Candida albicans* și *Torulopsis glabrata*, apar frecvent în vagin.

În postmenopauză dispariția glicogenului din epiteliul vaginal provoacă o ultimă succesiune bacteriană. Vaginul este recolonizat cu microorganisme de pe tegumentul perineal.

6.2.5.2. Uretra distală este normal colonizată cu bacterii provenite de pe tegumentul perineal, colon și vulvă. Astfel în uretra distală, în cantități moderate, sunt foarte frecvenți stafilococi coagulazo-negativi, comuni bacili difterimorfii, enterobacteriacee, enterococi, neisserii nepretențioase, *Fusobacterium* spp., micoplasme și *Ureaplasma*, iar ocazional prezente specii de *Candida*, *Propionibacterium*, clostridii, coci anaerobi gram-pozitivi și gram-negativi, lactobacili, micobacterii saprofite, stafilococi aurii.

6.2.6. Rolul fiziologic al microbiotei indigene

Teoretic, gazda s-ar putea dezvolta în absența microbiotei indigene, dovadă este supraviețuirea animalelor *germ-free*. Dar aceasta se întâmplă numai în condiții artificiale de laborator și cu multă cheltuială. În ambientul natural asemenea animale nu există.

Microbiota indigenă are rol bine definit în menținerea funcțiilor normale și a sănătății gazdei: roluri nutritive, stimulent pentru dezvoltarea competenței imune, barieră ecologică antimicrobiană.

Roluri nutritive. Microbiota intestinală produce proteaze care cresc capacitatea digestivă a gazdei (la rumegătoare microbiota rumenului este esențială pentru digestie); de asemenea produce cantități importante de vitamine (e.g., biotină, acid pantotenic, piridoxină, riboflavină, vitamină K) utile pentru gazdă, dar și pentru creșterea altor bacterii.

Stimulent al competenței imune. Animalele *germ-free* sintetizează de 50 ori mai puține imunoglobuline decât cele normal colonizate (convenționale).

Bariera ecologică antimicrobiană. Microbiota normală antagonizează noii contaminanți prin: competiția vitală pentru receptori și locuri libere pe suprafața celulelor, pentru nutrienți; inhibiția realizată de metaboliți toxici (H_2O_2 , pH acid etc.), antibiotice, bacteriocine sau alte mecanisme. Relațiile speciale ale gazdei cu microorganismele anaerobe nesporulate le-am explicat mai sus.

6.2.7. Efecte negative ale microbiotei indigene

Bacteriile colonului favorizează apariția sau dezvoltarea tumorilor maligne prin trei mecanisme: (1) **Generează produși carcinogeni** din substanțe precarcinogene cum sunt unii aminoacizi (lizina → piperidină, arginina/ornitina → pirolidină, metionina → etionină, tirozina → fenoli volatili), colesterol → fenantren, azocoloranți alimentari → fenil- și naftilamine substituie, nitrați → nitriți. (2) **Generează analogi de estrogeni** din steroizii

biliari. (3) **Amorsează ciclul entero-hepatic al hormonilor estrogeni** prin deconjugarea estrogenilor eliminați de ficat ca glucuronizi și sulfați neresorbabili. Surplusul de estrogeni resorbit din colon grăbește dezvoltarea cancerului de sân, o tumoră estrogen-dependentă. Toate aceste trei mecanisme sunt sub controlul unor enzime induse la bacteriile colonului de aminoacizii din carnea roșie (de vită, de porc) și a colesterolului din grăsimile animale: β -glucozidază, β -glucuronidază, nitroreductază, azoreductază, 7- α -dehidrolază, colesterol-dehidrogenază.

Un **sindrom de malabsorbție** apare prin metabolizarea sărurilor biliare în intestinul subțire de către *Bacteroides* spp. la pacienții cu acest situs colonizat de bacterii ale colonului în cursul stazei intestinale din sindromul ansei oarbe.

6.2.8. Disbiozele

Disbiozele sunt colonizări anormale ale unor suprafețe, mai restrânse sau mai extinse ale gazdei. Pot fi tranzitorii sau de durată, clinic mute sau creatoare de disconfort până la manifestare ca „boli ecologice”; pot altera microbiota unor suprafețe anterior colonizate sau extind colonizarea la alte suprafețe, normal necolonizate. Multe disbioze cresc receptivitatea gazdei la boli infecțioase. De aceea **cauzele și consecințele disbiozelor trebuie cunoscute de medic**, cu atât mai mult cu cât unele disbioze sunt iatrogene. Există cel puțin patru cauze de disbioze, pe care le vom ilustra prin câteva exemple: alterarea unor bariere antimicrobiene, modificarea condițiilor de găzduire, modificarea receptorilor pentru liganzii bacterieni, terapia antimicrobiană.

Alterarea unor bariere antimicrobiene. Aclorhidria duce la colonizări ale stomacului și duodenului, care deschid calea spre infecția căilor biliare. Staza intestinală din sindromul ansei oarbe determină colonizarea intestinului subțire cu microorganisme din colon. Alterarea transportului mucociliar permite colonizări traheo-bronșice care cresc riscul infecțiilor respiratorii joase.

Modificări ale condițiilor de găzduire:

- **Incapacitatea de a digera și absorbi dizaharidele**, cauzată fie de un deficit enzimatic congenital, fie de infecții virale ale enterocitelor, favorizează bacteriile care fermentează aceste zaharuri în colon și determină diaree prin creșterea concentrației moleculelor osmotice active și scăderea pH-ului.

- **Umidifierea tegumentului** prin hipersecreție sudorală favorizează înmulțirea excesivă a unei levuri lipofile, *Malassezia furfur*, care determină pitiriazis versicolor, o epidermofitie. Umidifierea comisurilor bucale prin scurgere de salivă, mai ales la pacienții diabetici, duce la înmulțirea excesivă a levurilor și *Streptococcus pyogenes* ca primă etapă spre dezvoltarea unei cheilite.

- **Lipsa igienei bucale dublată de consum crescut de dulciuri**, în special sub formă de adezive, favorizează dezvoltarea plăcii dentare prin producerea în exces de polimeri zaharidici adezivi. Foarte activ este *Streptococcus mutans*, care polimerizează glucoza în glucan printr-o glucoziltransferază. Fermentarea carbohidraților de către streptococii și lactobacilii plăcii dentare formează mari cantități de acid ($\text{pH} < 5$), care demineralizează smalțul dentar și inițiază patogenizarea cariilor.

Modificarea receptorilor epiteliali. Pierderea, în condiții de stres prelungit sau la vârstnici, a fibronectinei, receptorul pentru streptococii orali, principala barieră ecologică a orofaringelui prin producere de peroxid de hidrogen, deschide calea colonizării cu bacili gram-negativi, bacterii cu potențial patogen mai mare.

Medicația antibacteriană cu spectru larg, administrată per os, determină la unii pacienți boli ecologice prin supraînmulțire de microorganisme rezistente. Așa apare diareea

sau, mai gravă, enterocolita pseudomembranoasă cauzată de tulpini enterotoxigene de *Clostridium difficile*, specie multirezistentă la antibiotice. După terapia cu tetraciline pot să apară candidoze orale, vaginale sau intestinale, levurile fiind rezistente la antibioticele antibacteriene.

6.3. PATOGENITATEA MICROORGANISMELOR *VERSUS* APĂRAREA ANTIMICROBIANĂ A GAZDEI, O ISTORIE CONTINUĂ

Patogenitatea microorganismelor este expresia tendinței oricărei ființe de a acapara noi medii de viață unde să aibă avantaje selective pentru supraviețuirea în lupta cu organisme competitive. Țesuturile și mediul intern, unele dintre membranele mucoase sunt un asemenea ambient ideal unde un microorganism pătruns ar fi ferit de alte microorganisme competitive. Dar această acaparare produce leziuni și suferințe gazdei, adică boală infecțioasă. De aceea și gazda se apără printr-un sistem complex de bariere antimicrobiene continuu perfecționate. Altfel nu am fi putut să apărăm și să evoluăm într-o lume dominată de microorganisme.

6.3.1. Patogenitatea microorganismelor

„...cu cât descendenții unei specii se deosebesc între ei prin structură, constituție și obiceiuri, cu atât ei vor fi mai apti să ocupe locuri mai multe și mai variate în economia naturii și prin urmare vor fi mai apti să crească din punct de vedere numeric.”

CHARLES DARWIN

6.3.1.1. Definirea arsenalului patogen. Un microorganism este patogen când are sau poate dobândi structuri și funcții prin care: penetrează, se menține, supraviețuiește, se înmulțește și invadează țesuturile, supraviețuiește (eventual) răspunsului imun, supraviețuiește între două gazde succesive și determină leziuni.

Urmare adaptării la parazitism, microorganismele patogene au pierdut structuri și funcții nesemnificative în organismul gazdei. Toate sunt auxotrofe pentru nutrienți pe care îi găsesc preformați în umorile, țesuturile ori celulele gazdei. Dependența unora de gazdă face imposibilă cultivarea lor pe medii artificiale. Auxotrofia a devenit avantaj selectiv pentru că permite microorganismelor parazite să consume timp și energie pentru biosinteza structurilor care le asigură penetrarea și adaptarea exclusivistă în nișe ale gazdei. Aceste structuri sunt codificate cromosomal și, frecvent, extracromosomal (plasmide, profagi).

Virulența măsoară patogenitatea unui microorganism și o exprimăm în doze minime letale (DLM) sau, mai precis, în doze letale 50% (DL50).

Coroborarea virulenței cu clonarea ADN a permis identificarea factorilor de patogenitate și a genelor care îi codifică. Rezultatele acestor cercetări au fost sintetizate de S. Falkow în cele **trei postulate moleculare ale lui Koch** (nu le confundați cu clasicele postulate ale lui Koch, care fundamentează teoria germenilor drept cauză a bolilor infecțioase):

(1) Fenotipul (proprietatea, structura, funcția) investigat trebuie să fie asociat tulpinilor patogene ale unei specii sau speciilor patogene ale unui gen.

(2) Inactivarea specifică a genei(lor) care codifică fenotipul patogen suspectat trebuie să ducă la o pierdere cantificabilă a virulenței.

(3) Reversia sau substituția alelică a genei mutante trebuie să restaureze patogenitatea.

Puține bacterii sunt patogene printr-un singur caracter fenotipic: e.g., bacilul botulinic ne poate omorî numai prin toxina lui, chiar în absența bacteriei. Restul microorganismelor au un „arsenal” de virulență mai complet (microorganisme patogene) sau mai puțin complet

Relațiile microorganism-gazdă umană

(microorganisme condiționat sau accidental patogene). Vorbim astăzi de fenotipuri patogene sau simplu patotipuri. Aici ne limităm la schematizarea mecanismelor virulenței. Detalii particularizate pentru diferitele specii veți găsi în capitolele de microbiologie specială.

6.3.1.2. Penetrarea. Mucoasele sunt mai ușor penetrate decât tegumentul normal. Strategiile de penetrare sunt variate:

- Translocarea prin epiteliul digestiv intact se realizează la nivelul celulelor M ale limfoepiteliului intestinal specializate în captarea informației antigenice.
- Producerea de neuraminidaze care rup acidul sialic din glicoproteine și fac mucusul penetrabil.
- Crearea de discontinuități în bariera ecologică prin bacteriocine.
- Mobilitatea unor bacterii.

6.3.1.3. Menținerea pe suprafețele gazdei este asigurată de liganzi care recunosc receptori specifici: e.g., fimbrii, glicocalix, proteine de membrană externă.

6.3.1.4. Strategii de supraviețuire:

- Agresinele sunt citotoxine bacteriene (leucocidine, hemolizine) care omoară fagocitele.
- Protecția față de bariera acidă gastrică este eludată de *Helicobacter* prin stratul S al peretelui și producere de urează, care prin amoniacul degajat din hidroliza ureei neutralizează acidul clorhidric.

6.3.1.5. Multiplicarea în gazdă. Restricțiile nutritive create de chelatorii de fier ai gazdei (lactoferină, transferină) sunt depășite de bacteriile care produc chelatori mai avizi pentru fier: e.g., enterochelina activă pe mucoase sau aerobactinul activ în mediul intern.

6.3.1.6. Invazia țesuturilor. Unele bacterii o realizează prin enzime (e.g., hialuronidază, collagenază), altele, ca spirochetele, prin mobilitatea particulară asociată cu structuri proteice dispuse polar.

6.3.1.7. Strategiile de supraviețuire față de răspunsul imun al gazdei, individual sau populațional, sunt numeroase:

- Localizarea în situsuri privilegiate: e.g., bacterii dormante în macrofage, infecția persistent integrată a neuronilor prin virusul herpes simplex.
- Identitatea antigenică între structuri de virulență și structuri ale gazdei.
- Variația antigenului de virulență. Variantele sunt selectate sub presiunea imună a gazdei și infecția persistă la un bolnav (e.g., infecțiile gonococice se cronicizează) sau într-o populație (e.g., virusurile gripale generează variante responsabile de izbucniri periodice epidemice sau pandemice ale gripei).
- Multitudinea serovarurilor definite de antigenul major de virulență asigură supraviețuirea unei specii într-o colectivitate.

6.3.1.8. Strategii de supraviețuire între gazde succesive:

- Endosporii desecați asigură zeci și sute de ani persistența în mediul extern a speciilor de *Bacillus* și *Clostridium*.
- Endosimbioza legionelelor cu protozoare care se închistează le asigură o mare rezistență în ambient.
- Structuri speciale de perete fac rezistenți bacilii tuberculozei la desicare, agenții chimici și radiații.

• Microorganisme foarte fragile s-au adaptat unele la transmiterea sexuală (e.g., gonococii, treponema sifilisului), altele la transmiterea prin insecte hematofage (e.g., borreliile, rickettsiile).

6.3.1.9. Lezarea structurilor gazdei este realizată prin mecanisme directe și indirecte.

(1) **Lezarea directă** o realizează toxinele bacteriene sau virusuri prin efectul citopatic. *Toxinele bacteriene sunt proteice sau lipopolizaharidice.* Pentru simplificare, să punctăm comparativ proprietățile celor două tipuri de toxine.

(i) **Relațiile cu bacteria producătoare.** *Toxinele proteice sunt numite exotoxine* pentru că difuzează în mediul de cultură și pot fi separate prin filtrare. *Toxinele lipopolizaharidice*, localizate pe membrana externă a bacteriilor gram-negative, *sunt numite endotoxine* pentru că sunt somatice și eliberate prin liza bacteriei.

(ii) **Codificarea genetică.** Unele exotoxine, ca cea difterică, botulinică etc., sunt codificate de gene ale profagilor, altele sunt codificate plasmidic, ca toxina tetanică, cea carbunoasă etc. Endotoxinele sunt codificate cromosomal, iar variația S→R nu le influențează sinteza pentru că efecte toxice are numai lipidul A (fig.2-5).

(iii) **Stabilitatea termică.** Endotoxinele sunt termostabile (la fierbere), exotoxinele termolabile. Între toxinele proteice excepție fac enterotoxinele stafilococice, care rămân active până la 30 minute de fierbere.

(iv) **Toxicitatea.** Exotoxinele, cu DLM-ul lor de ng/kg corp, sunt cele mai puternice toxine (1 mg de toxină botulinică purificată conține $1,2 \times 10^6$ DLM/kg de cobai). Endotoxinele au DLM doar de ordinul $\mu\text{g/kg}$ corp.

(v) **Mecanism și specificitate de acțiune:**

• Endotoxinele, indiferent de bacteria care le produce, au structură asemănătoare și acționează, după inserția în membrana citoplasmică, prin stimularea eliberării de citokine din macrofage. Citokinele IL-1, IL-6, IL-8 împreună cu TNF- α și factorul de activare a plachetelor stimulează producerea de prostaglandine și leucotriene. În funcție de doză, efectele toxice sunt: febră, leucopenie urmată de leucocitoză, hiperglicemie urmată de hipoglicemie. La doze mai mari, eliberate brusc în circulație, apare colaps cardiovascular cu coagulare diseminată intravasculară, care caracterizează șocul endotoxinic. Poate să apară și diaree hemoragică secundară efectelor endotoxinei asupra plachetelor sangvine și complementului.

Alte efecte, tot nespecifice, ale endotoxinelor sunt cele de adjuvanți imunologici și mitogeni ai limfocitelor B.

Efecte asemănătoare endotoxinelor au peptidoglicanul cu structură tridimensională al bacteriilor gram-pozitive, lipoarabinomananul bacililor acido-rezistenți, zimosanul levurilor, exoantigene fosfolipidice ale plasmodiilor. Toate aceste structuri induc producerea factorului de necroză a tumorilor, dar amănunte privind mecanismul efectului toxic nu sunt lămurite.

• Exotoxinele pot fi citotoxine sau toxine A-B.

Citotoxinele acționează asupra membranei celulelor eucariote mai specific decât endotoxinele. Unele sunt fosfolipaze, ca toxina α produsă de *Clostridium perfringens*. Altele, după inserție în membrana citoplasmică, se oligomerizează cu formare de canale transmembranare și ruperea, în final, a membranei.

Toxinele A-B sunt formate dintr-un polipeptid A și unul sau mai multe polipeptide B. Porțiunea A este o enzimă, ADP-riboziltransferaza. Porțiunea B funcționează ca ligand. Complexul A-B se fixează specific pe receptori celulari și induce pinocitoză receptor dependentă. Legăturile disulfidice dintre porțiunea A și B se rup, iar porțiunea A ajunge în citoplasmă unde transferă restul ADP-riboză pe o anumită țintă moleculară, funcție de care

Relațiile microorganism-gazdă umană

apar efectele specifice ale toxinei. De exemplu, pentru toxina difterică ținta moleculară este factorul de elongare 2 (EF-2) cu inhibiția consecutivă a sintezei proteice (fig.6-2).

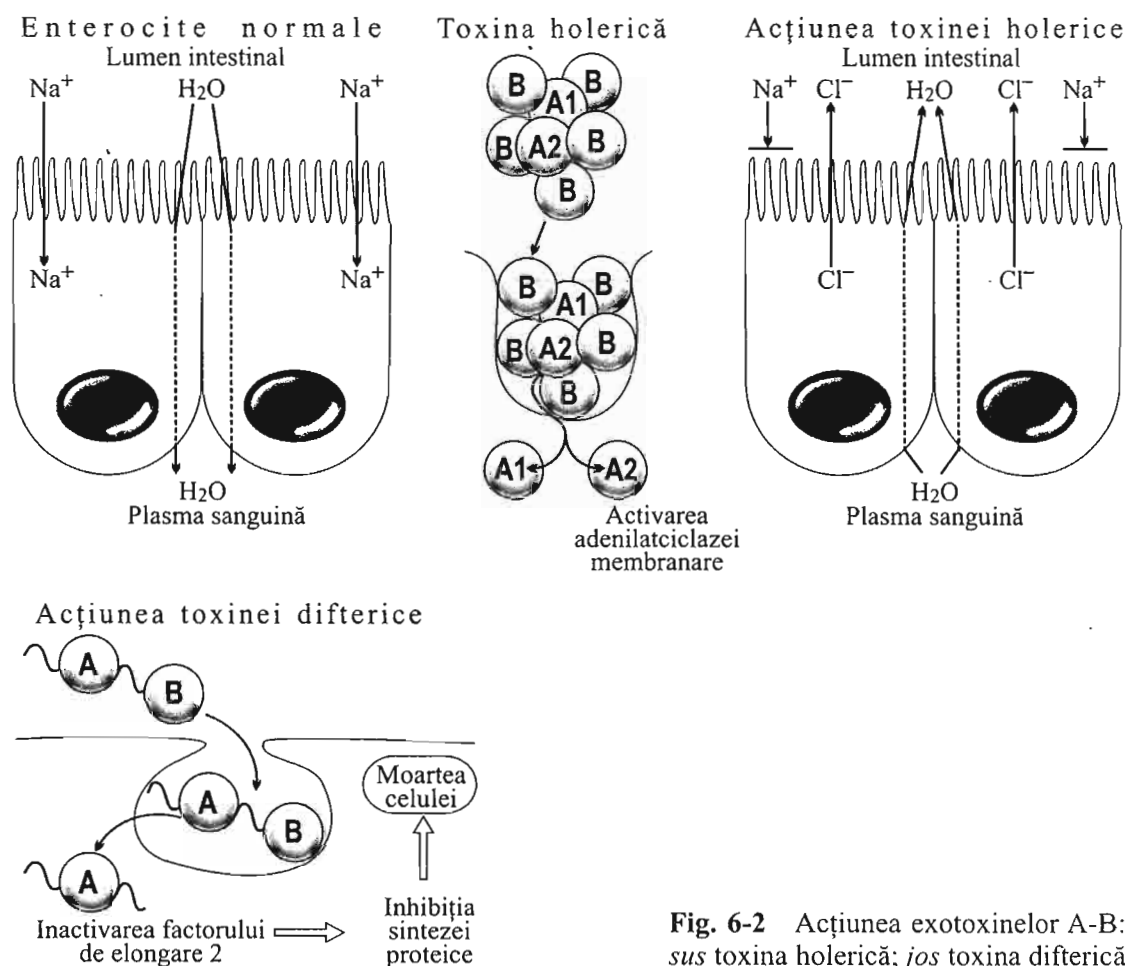


Fig. 6-2 Acțiunea exotoxinelor A-B: *sus* toxina holerică; *jos* toxina difterică

Așadar specificitatea acțiunii toxinelor A-B este dublu condiționată: prin specificitatea de receptor pentru complexul toxic și prin specificitatea țintei pentru restul ADP-riboză. Semnificația biologică pentru bacterii a toxinelor A-B rămâne o enigmă. Prin conversie lizogenică aceeași toxină poate fi produsă de specii diferite: toxina difterică frecvent de *Corynebacterium diphtheriae* și ocazional de *C. ulcerans*; toxina botulinică de *Clostridium botulinum* și ocazional de *C. butyricum*.

Toxigeneza joacă rol major în patogenia și expresia clinică a unor boli:

– Exotoxinele în difterie (toxina difterică produsă de *C. diphtheriae*), tetanos (toxina tetanică – *Clostridium tetani*), botulism (toxina botulinică – *C. botulinum*) etc.

– Endotoxinele în febra tifoidă (bacilul tific), în peritonite sau perfuzii de soluții contaminate cu variați bacili gram-negativi.

(vi) **Antigenitate versus toxicitate.** Exotoxinele sunt antigene, dar, doza toxică fiind mai mică decât cea imunogenă, animalul moare intoxicat fără să producă anticorpi. Supraviețuitorii după botulism sau tetanos rămân receptivi la aceste boli pentru că nu se imunizează.

Anatoxinele, numite și toxoizi, sunt exotoxine detoxificate în condiții care le prezervă imunogenitatea: practic, tratare cu formol la cald. Anatoxinele sunt folosite ca vaccinuri

antitoxice. Anticorpilor apăruți după vaccinare cu o anatoxină sunt numiți *antitoxine* și neutralizează exotoxinele.

Endotoxinele nu pot fi transformate în anatoxine. Sunt imunogene în anumite condiții, dar anticorpilor nu le neutralizează complet efectele.

(2) **Lezarea indirectă** este efectul sensibilizării la antigene microbiene:

- *Reacții de tip I, anafilactice*, ca în cazul astmului intrinsec pe care îl dezvoltă unii bolnavi cu bronșită.

- *Reacții de tip II, citolitic-citotoxice*, determinate, spre exemplu, de reacția glicoproteinelor virale exprimate pe membrana celulei infectate cu anticorpilor și complementul activat pe calea clasică, cu celulele ucigașe (citotoxicitatea celulară anticorp-dependentă), cu limfocitele T citotoxice.

- *Reacții de tip III, prin complexe imune cu participarea complementului*:

- complexe circulante (reacții de tip boala serului) ca glomerulonefritele poststreptococice ori din pneumoniile pneumococice etc.;

- complexe tisulare (reacții de tip Arthus) ca leziunile pulmonare ale copiilor care au contractat rujeola cu o tulpină sălbatică curând după vaccinare antirujeolică inefficientă.

- *Reacții de tip IV, sensibilizare întârziată numită și de tip tuberculinic*, ca în infecțiile cu microorganisme facultativ intracelulare.

6.3.1.10. Patogenitatea prin sinergism microbial. Să analizăm numai trei exemple:

(i) *Sinergism viro-bacterian*. Gripa, prin dezorganizarea transportului mucociliar al epitelului respirator, crește receptivitatea pacienților la suprainfecții bacteriene. Suprainfecția cu *Staphylococcus aureus* evoluează foarte grav pentru că această bacterie produce o protează care, prin clivarea hemaglutininei, crește titrul infecțios al virusului gripal în pulmoni.

(ii) *Sinergismul bacteriilor aerobe cu cele anaerobe* poate facilita colonizarea unui țesut și determină boală prin sumarea factorilor de virulență. *Bacteroides* spp. nu infectează singure plăgile, deși au capacitatea de a inhiba fagocitoza și de a determina leziuni. Prezența oxigenului le este defavorabilă. Nici bacteriile coliforme nu inițiază singure infecția țesuturilor pentru că sunt rapid fagocitate. Dar bacilii coliformi în asociație cu *Bacteroides* spp. determină infecții: coliformii consumă oxigenul și scad potențialul de oxidoreducere al țesutului până la nivele favorabile dezvoltării anaerobilor stricți care, la rândul lor, protejează coliformii de fagocitoză și determină leziuni.

(iii) În anumite asociații virulența unui consort condiționat patogen crește. Așa la pacienții cu tuse convulsivă, hemaglutinina filamentoasă produsă de *Bordetella pertussis* este folosită prin „piraterie” de către *Haemophilus influenzae*.

6.3.1.11. Reglarea genetică a virulenței bacteriilor.

Bacteriile patogene au evoluat din forme libere, saprofite. Multe și-au pierdut capacitățile de viață independentă. Ele își adaptează foarte precis expresia fenotipică a unei structuri sau alteia numai când aceasta îi aduce un avantaj selectiv.

Codificarea plasmidică a unor factori de virulență (e.g. chelatori de fier, pili, hemolizine, enterotoxine) sau de profagi (e.g., exotoxine) permite, după necesități, amplificarea și deamplificarea acestui fond de informație.

Expresia genelor de virulență este declanșată de semnale din mediu care controlează inducția sau represia operonilor implicați în virulență:

- **Temperatura.** *Bordetella pertussis* exprimă genele de virulență la 37°C, temperatura omului, dar le reprimă la temperaturi mai joase de cultivare. *Yersinia enterocolitica* și *Listeria monocytogenes* exprimă mobilitatea numai la 25°C (probabil semnificativă în mediul extern), dar o reprimă la 37°C. *Yersinia* spp. exprimă operonul *Yops*, care codifică proteine antifagocitare, maximal în lipsa ionilor de Ca²⁺ și la 37°C, dar îl reprimă la 25°C.

Relațiile microorganism-gazdă umană

• Osmolaritatea, pH-ul, temperatura, unii aminoacizi din mediul de cultură controlează expresia a cca 20 de gene ale *Vibrio cholerae*. Toxina holerică este produsă în cantități mai mari la pH 6 decât la pH 8,5, la 30°C decât la 37°C.

6.3.2. Apărarea antimicrobiană

„Cea mai importantă dintre toate cauzele schimbărilor organice este...relația reciprocă de la organism la organism având ca urmare perfecționarea sau exterminarea celorlalte organisme.”

CHARLES DARWIN

Omul opune agresiunii microbiene bariere și mecanisme înnăscute completate și modulate de bariere și mecanisme dobândite. Apărarea antiinfecțioasă înnăscută s-a dezvoltat filogenetic și este activă împotriva microorganismelor *sui generis* – este nespecifică. Apărarea antiinfecțioasă dobândită se dezvoltă ontogenetic urmare răspunsului imun și depinde de experiența antigenică/infecțioasă individuală – este specifică.

6.3.2.1. Bariere și mecanisme nespecifice externe. Pe învelișuri sunt active bariere mecanice, fizice, chimice, celulare și ecologice.

(1) **Barierile tegumentare.** Prin straturile celulare suprapuse ale epidermei, tegumentul este cea mai eficientă *barieră mecanică*. Prin tegumentul intact nu penetrează microorganisme. Exfolierea îndepărtează prin scuame bacteriile superficiale și completează bariera mecanică. *Bariera ecologică* formată din microbiota rezidentă a tegumentului, dominată de bacteriile gram-pozitive, generează prin lipoliza sebumului o *barieră chimică*, pH-ul ușor acid. Barierele ecologică și chimică se opun eficient implantării bacililor gram-negativi în microbiota tegumentară. Punctele de minimă rezistență față de agresiunea bacteriană sunt: unitățile pilosebacee, glandele sudoripare apocrine ale axilei și perineului ori areolei mamare, crevasele epidermice profunde, epiderma macerată de umezeală.

(2) **Barierile mucoaselor** sunt mai complexe decât ale tegumentului, dar nu tot atât de eficiente, încât cele mai multe boli infecțioase au poartă de intrare diferitele mucoase (digestivă, respiratorie, genitală, urinară). *Bariera mecanică* este formată de epiteliile pavimentoase stratificate (orofaringe, vagin, uretra feminină, partea distală a uretrei masculine) și de variate epiteliile secretorii. *Bariera glicoproteică*, mucusul, antagonizează aderența bacteriilor lipsite de liganzi speciali (e.g., glicocalix înrudit chimic cu glicoproteinele mucusului). Secrețiile completează bariera mecanică prin spălarea suprafețelor și intervin ca *barieră chimică* prin conținutul lor în lactoferină (chelator de fier) și lizozim (enzimă muralitică). *Bariera ecologică* reprezentată de microbiota unor mucoase oferă protecție antiinfecțioasă importantă. Diferitele cavități și tractusuri care comunică cu exteriorul au și particularități ale apărării antimicrobiene nespecifice:

(i) În **tractusul respirator** sunt active în plus: filtrarea aerodinamică, sedimentarea, fagocitoza și transportul mucociliar (fig.6-3; planșa 6.1,2).

Filtrarea aerodinamică reține particulele >15 μm în perii nărilor, pe cele de 10-15 μm prin impactare pe mucoasa cornetelor nasale, a nasofaringelui și laringelui iar pe cele de cca 10 μm prin impactare pe mucoasa bronșică până la a 10-a diviziune unde coloana de aer inhalat devine staționară.

Sedimentarea particulelor de 5-10 μm pe mucoasa bronhiilor mici este favorizată de mișcarea browniană.

Macrofagele alveolare fagocitează particulele mai mici de 5 μm care ajung până în alveole.

Transportul mucociliar al epitelului respirator antrenează eficient spre orofaringe și exterior particulele impactate și parte din macrofagele alveolare fagocitante. Eficiența acestui mecanism de eliminare microbiană este considerabilă: într-o oră îndepărtează cca 90% din bacteriile inhalate.

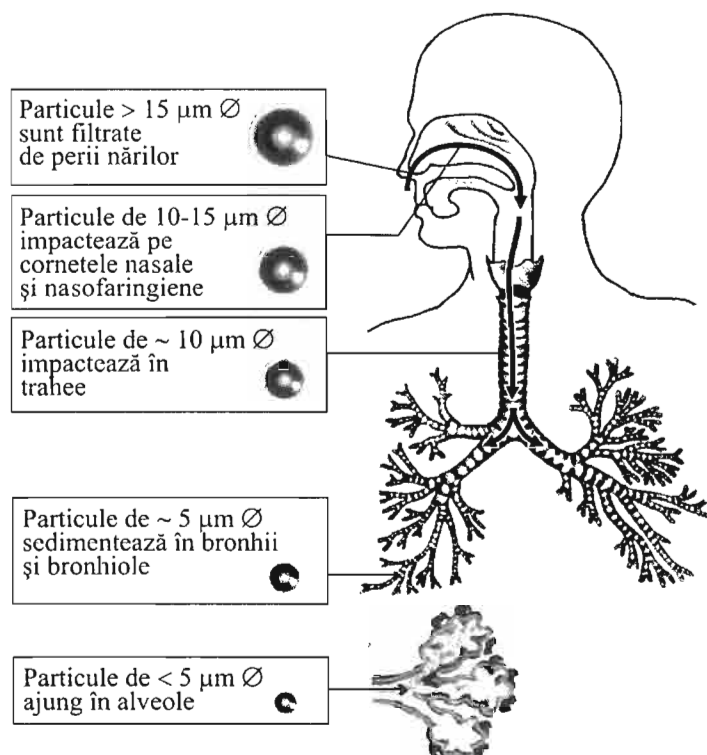


Fig. 6-3 Filtrarea aerodinamică și sedimentarea sunt bariere primare antimicrobiene ale căilor respiratorii

În cavitățile conectate tractusului respirator superior este activ transportul mucociliar.

(ii) În **orofaringe** eficiența *barierei mecanice* este completată prin spălare salivară, descumarea epitelului pavimentos stratificat, masticăția și deglutiția. *Bariera ecologică* este activă mai ales prin streptococii orali care produc peroxid de hidrogen, un inhibitor eficient al bacteriilor patogene. *Bariera chimică* salivară interacționează cu cea ecologică: lactoperoxidaza catalizează reacția tiocianatului salivar cu H_2O_2 din care rezultă hipotiocianat mai puțin toxic pentru celulele gazdei, dar inhibitor puternic al enzimelor glicolitice bacteriene implicate în cariogeneză.

(iii) **Stomacul** este protejat de *bariera acidă* a secreției gastrice (pH cca 2) care prin *cei trei litri secretați zilnic spală mucoasa*.

(iv) **Intestinul** este continuu *spălat, prin mișcări peristaltice, cu cca 50 litri de secreții digestive*. *Bariera chimică* este formată mai ales din săruri biliare. *Bariera ecologică* este activă din ileonul terminal, dar mai ales în colon.

(v) **Căile urinare** sunt *spălate* continuu și în sens unic de fluxul urinar. Cât timp micțiunea este normală, completă, spațiul mort vezical este minim și nu permite colonizări ale urinei prin contaminanți accidentali. *Bariera chimică* este complexă: pH-ul acid și osmolaritatea mare a urinei cu concentrația importantă de uree sunt defavorabile dezvoltării unor bacterii. Secreția prostatică și a glandelor periuretrale este bacteriostatică. Rolul protector al barierei mecanice și chimice primează pentru apărarea medulei renale unde osmolaritatea crescută a urinei inhibă fagocitoza și activarea complementului. Foarte important pentru apărarea contra fenotipului uropatogen de *Escherichia coli* este statusul

Relațiile microorganism-gazdă umană

secretor al antigenelor de grup sanguin P și Dr. Prezența acestor antigene în urină blochează liganzii fimbriali P și Dr și previne aderența patotipului uropatogen la uroepiteliu.

(vi) **Căile genitale feminine.** *Vaginul* este apărat de *bariera acidă*, generată prin fermentarea glicogenului de către lactobacili, și *descuamarea epitelului pavimentos* împreună cu bacteriile aderente. **Căile genitale interne:** accesul microorganismelor este limitat prin mucusul endocervical, iar microorganismele pătrunse sunt îndepărtate prin transportul mucociliar al mucoasei salpingiene și descuamarea periodică a mucoasei uterine.

(vii) **Conjunctiva** este spălată, prin mișcările palpebrale, de secreția lacrimală care vine cu o importantă cantitate de lizozim.

6.3.2.2. Barierele antimicrobiene nespecifice ale mediului intern

(1) **Barierile mecanice**, formate din țesutul conjunctiv dens, sunt ușor depășite de bacteriile care produc collagenaze.

(2) **Bariera chimică**, complexă, este reprezentată de interferoni, reactivii de fază acută și activarea complementului pe calea alternativă.

(i) **Interferonii (IFN)**, prima linie de apărare antivirală, sunt proteine produse de toate vertebratele. După celulele producătoare recunoaștem IFN α , sintetizat predominant de leucocite, IFN β – mai ales de fibroblaști, și IFN γ – numai de limfocite T. Secreția de interferon trebuie indusă. Infecția virală este inductor important al sintezei IFN: virusurile ARN sunt inductori mai puternici decât cele ADN. Inductori de IFN mai pot fi ARN d.c. sintetic, endotoxina și molecule mici ca tirolona. Excepție face IFN γ : nu apare ca răspuns la majoritatea virusurilor, ci este indus după stimulare prin mitogeni.

Interferonii, care apar la mai puțin de 48 ore de la debutul infecției virale, determină scăderea titrului virusului infectant încă înainte de apariția anticorpilor (fig.6-4). Sunt activi și

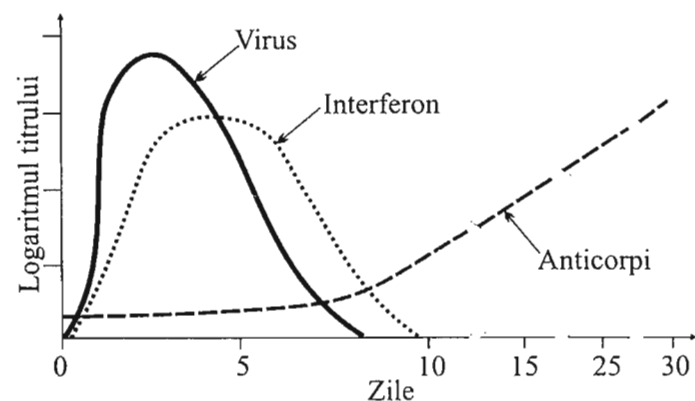


Fig. 6-4 Cinetica concentrațiilor de virus, de interferon și anticorpi într-o viroză respiratorie. În infecția ilustrată interferonul este implicat primar în vindecarea bolii.

la pacienții agamaglobulinemici. Acțiunea antivirală a IFN este nespecifică: inhibă replicarea nu numai a virusului inductor, ci și a unei mari varietăți de alte virusuri. În schimb acțiunea protectoare a IFN este limitată numai la specia producătoare (e.g., protecția omului o realizează numai IFN umani).

Interferonii recunosc pe suprafața celulelor speciei producătoare receptori specifici: comuni pentru IFN α și IFN β , dar diferiți pentru IFN γ . Este suficientă fixarea a 50 molecule IFN per celulă pentru ca efectele lor să apară.

Interferonii nu sunt *per se* agenți antivirali. Ei sunt inductori ai unor proteine și enzime care blochează replicarea virală prin inhibarea traducerii ARNm în proteine virale. În afară de

efecte antivirale, IFN au și o largă varietate de activități regulatorii celulare: diferențierea și inhibiția creșterii celulare, modularea răspunsului imun.

Clonarea în bacterii sau levuri a genelor care codifică IFN a permis producerea de cantități suficiente pentru scopuri terapeutice.

(ii) Dintre *reactivii de fază acută* reținem: proteina C reactivă cu activitatea ei opsonizantă după activarea complementului pe calea clasică, α_1 -antitripsina și α_1 -antichimotripsina ca inhibitori ai proteazelor, proteine ale sistemului complement (C1s, C2-C6, factorul B), fibrinogenul, protrombina.

(iii) *Sistemul complement*, așa cum l-ați studiat la Imunologie, este o importantă barieră antimicrobiană. Pentru a vă reaminti, în planșa 6.1,4 aveți ilustrată acțiunea complexului ucigaș asupra unei bacterii gram-negative.

(3) **Bariera celulară** este formată din cele două sisteme fagocitare circulante și cu răspândire difuză: granulocitar și reticulo-endotelial. Trebuie să vă reamintiți din studiile anterioare: chemotaxia, recunoașterea țintei de atac, ingestia cu semnificația degranulării (prin regurgitare în exterior și deversarea enzimelor lizosomale în fagosom), explozia respiratorie urmată de omorârea și digestia microorganismelor fagocitate.

Inflamația acută concentrează în focarul infecțios mediatorii inflamației (efectori ai sistemului complement, sistemul kalicein-kinine, prostaglandine etc.), fagocite, fibrinogen, anticorpi, care cooperează la eliminarea microorganismului agresor (fig.6-5).

6.3.2.3. Imunitatea antimicrobiană. Pragmatic, ne interesează clasificări ale imunității după modul de apariție și mecanismul de realizare.

(1) **Clasificări ale imunității** după modul de apariție: imunitatea naturală *versus* artificială și imunitatea activă *versus* pasivă. Aceste criterii conturează patru ipostaze practice ale imunității cu avantaje sau/și dezavantaje.

(i) *Imunitatea naturală activă* apare după infecție la gazde imunocompetente; induce memorie imunologică și este de durată.

(ii) *Imunitatea artificială activă* apare prin vaccinarea unei persoane imunocompetente, devine eficientă numai după intervalul necesar imunogenezei, induce memorie imunologică și persistă un interval relativ lung.

(iii) *Imunitatea naturală pasivă* este asigurată de anticorpii materni transmiși nou-născutului transplacentar sau prin lapte. Durează până la catabolizarea imunoglobulinelor matrne.

(iv) *Imunizarea artificială pasivă*, asigurată prin injectare de anticorpi preformați în alt organism, este activă imediat, chiar la gazda agamaglobulinemică, dar persistă numai până la catabolizarea imunoglobulinelor injectate.

(2) **Mecanismele imunității antimicrobiene**

(i) *Bariera imună a epiteliilor secretorii și funcția de excludere imună* („vopseaua imună”, „fardul imun” al mucoaselor). Bariera imună a mucoaselor este formată de anticorpii secretori, în principal IgA. Anticorpii IgM au participare modestă de până la 5%, dar în deficite congenitale ale IgA, anticorpii IgM sunt translocați prin epiteliile secretorii în cantități mai mari, fără a suplea integral lipsa anticorpilor IgA. Acești anticorpi, fixați prin componenta secretorie la resturile de cistină ale mucinei, se dispun în film monomolecular cu subunitățile Fab reacționale la interfața mucus-fluid luminal. Astfel dispuși, anticorpii secretori fixează și neutralizează toxinele și liganzii microbieni pentru receptorii epiteliali. Ca urmare microorganismele rămân pe suprafața mucusului expuse acțiunii enzimelor, factorilor chimici și mecanismelor de eliminare proprii fiecărei mucoase.

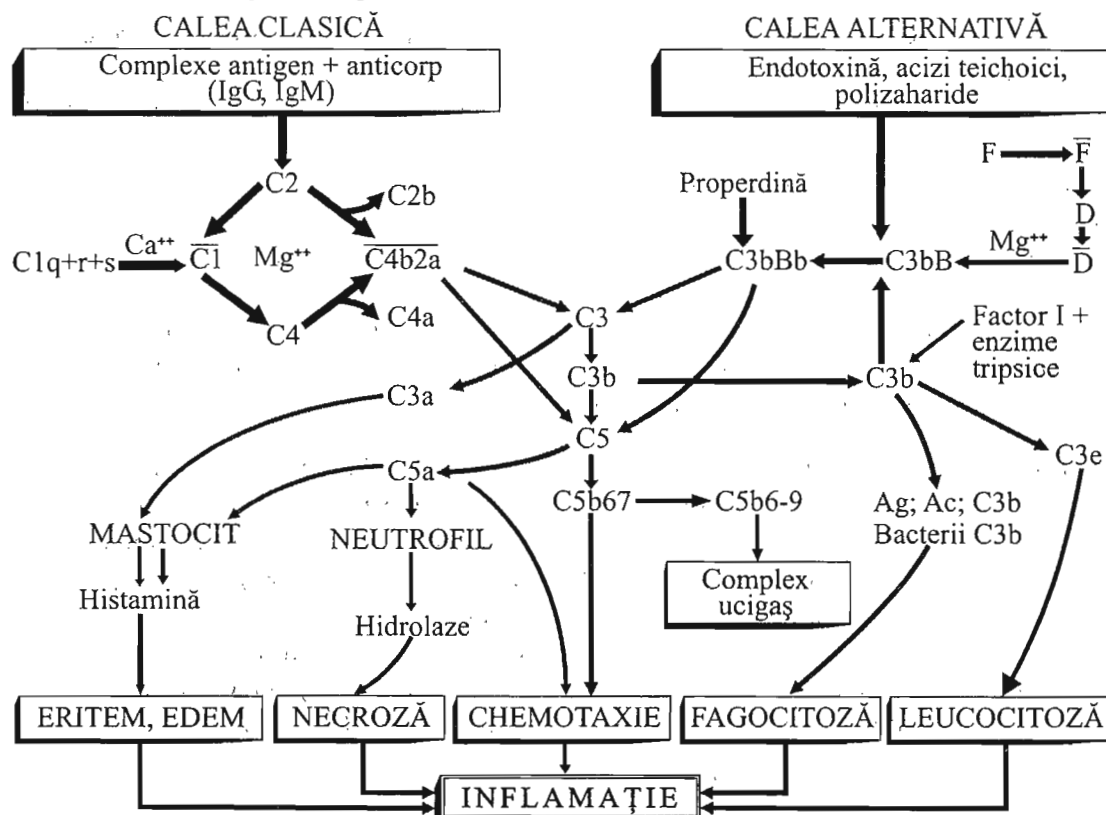


Fig. 6-5 Sistemul complement: căile de activare, efectorii și relațiile lor cu inflamația acută

(ii) *Bariera imună a corionului mucoaselor și dermului*, reprezentată de sistemul IgE–mastocit, este a doua linie a apărării imune eficientă mai ales contra helminților care penetrează mucoasele (ankilostome, schistosome etc.), a căpușelor și arahnidelor parazite (*Sarcoptes* etc.). În toate aceste parazoze nivelul IgE este crescut iar mastocitele se acumulează în corion și derm. Reacția antigenelor parazitare cu anticorpii IgE fixați pe mastocite declanșează degranularea acestora cu eliberarea de histamină și alți mediatori care:

- *cresc permeabilitatea vasculară*, condiție favorabilă accesului în focar de componente plasmatică și celule;
- *determină contracția intestinului*, favorabilă eliminării parazitului;
- *declanșează pruritul* și gratajul caracteristic în râie, o modalitate de dislocare și îndepărtare a parazitului.

(iii) *Mediul intern și țesuturile* sunt apărate prin reacții de neutralizare, opsonizare, bactericide, citotoxice ori de activare a macrofagelor.

• *Reacțiile de neutralizare a toxinelor, agresinelor și invazinelor bacteriene ori a unor virusuri*. Neutralizarea asigură imunitatea în virozele cu fază viremică (e.g., poliomielifita, rujeola etc.), dar contra virusurilor care se propagă direct de la o celulă la alta (e.g., herpesvirusuri) este inefficientă. Reacțiile de neutralizare sunt controlate de anticorpi din subclasa IgG₁, anticorpii răspunsului imun secundar care traversează cel mai eficient bariera placentară.

• *Reacțiile de opsonizare* sunt operante contra bacteriilor cu structuri de înveliș antifagocitare. Anticorpii IgG fixați pe polizaharidele capsulare, pe proteina M a streptococilor funcționează ca liganzi la fagocitele care au receptori pentru subunitatea Fc a anticorpilor și pentru C3b fixat. La om, specie lipsită de receptori fagocitari pentru Fc al IgM, anticorpii IgM funcționează numai ca opsonine complement dependente cu rol deosebit în

apărarea antiinfecțioasă. Pacienții cu deficiență primară în C3 au manifestări morbide asemănătoare celor ale hipogamaglobulinemiei: infecții recurente ale urechii medii, meningite recurente cu meningococi, pneumonii.

Anticorpul IgG₂, importante opsonine, traversează mai puțin eficient bariera placentară de aceea nou-născuții din mame cu titruri reduse ale anticorpilor față de *Haemophilus influenzae* tip b sunt receptivi la infecțiile grave determinate de această bacterie.

• *Reacții bacteriolitice și citolitice controlate de anticorpul umoral.* Sub acțiunea exclusivă a anticorpilor bacteriile pot să aglutineze, ceea ce nu le afectează însă viabilitatea: în mediu prielnic acestea își continuă multiplicarea. Prin calea clasică de activare, anticorpul care au reacționat cu antigene de membrană amorsează efectele bactericide și litice ale complementului. În reacțiile litice anticorpul IgM sunt de 1000 de ori mai eficienți decât cei IgG.

Celulele care replică virusuri cu anvelopă și exprimă pe suprafața membranei citoplasmice glicoproteine virale devin ținte ale anticorpilor și complementului (reacții citolitice) ori ale anticorpilor și celulelor ucigașe (citotoxicitatea celulară anticorp dependentă). Citotoxicitate specifică față de celule care replică virusuri cu anvelopă au și limfocitele T citotoxice.

• *Mecanismele imunității celulare antibacteriene* intervin în infecțiile cu bacterii facultativ sau obligat intracelulare. Limfocitele T specific sensibilizate, după reacția cu antigenul bacterian omolog, sunt activate și secretă limfokine. Limfokinele cu rol în imunitatea antibacteriană sunt: factorii chemotactici, de imobilizare și activare a macrofagelor; factorul mitogen și factorul de transfer.

6.2.3.3. Apărarea imună a nou-născutului. Statusul imun al nou-născutului explică receptivitatea la această vârstă pentru anumite infecții, calendarul vaccinărilor și dificultățile întâlnite în diagnosticul bolilor infecțioase.

Nou-născutul are capacități de a monta răspuns imun, dar este lipsit de experiența antigenică și ca atare nu are încă efectori imunitari proprii și implicit memoria imunologică respectivă. Complementul realizează numai 50-70% din nivelul adultului. Fagocitele sunt imature funcțional.

Imunitatea antiinfecțioasă a nou-născutului este pasivă, asigurată numai de anticorpul matern: cei IgG primiți transplacentar și cei IgA prin lapte. Anticorpul IgM și limfocitele specific sensibilizate nu traversează placenta. Prematurii născuți înainte de a 34-a săptămână și nou-născuții hrăniți artificial nu beneficiază integral de aportul anticorpilor materni și sunt și mai receptivi la infecții. La adăpostul anticorpilor materni, progresiv, copilul își elaborează anticorpi proprii.

Rata catabolismului anticorpilor materni *versus* rata sintezei anticorpilor proprii, inclusiv experiența antigenică, determină câteva perioade particulare ale imunității antiinfecțioase a copilului:

• *Hipogamaglobulinemia fiziologică și „fereastra imună”* din lunile a doua până la a patra de viață.

• Nivelul imunoglobulinic al adultului este atins pentru anticorpul IgM la vârsta de aproximativ un an, IgG la 5-8 ani, iar IgA la 10-11 ani.

Din statusul imun al nou-născutului decurg câteva consecințe:

(i) *Receptivitatea crescută a nou-născutului la infecții* cu: • bacili gram-negativi (absența IgM materne, principalii anticorpi activi contra acestor bacterii); • microorganisme facultativ și obligat intracelulare (absența limfocitelor T specific sensibilizate).

(ii) *Particularități în diagnosticul infecțiilor neonatale:*

• Multe semne clinice ale bolilor infecțioase sunt discrete din cauza imaturității

răspunsului inflamator.

- Valoarea specială a depistării anticorpilor IgM pentru a diferenția răspunsul imun la infecția *postpartum* față de cea congenitală, antenatală (e.g., sifilisul).

(iii) *Calendarul vaccinărilor la nou-născut, sugar și gravidă:*

- Vaccinările care vizează răspunsul imun celular trebuie făcute nou-născutului la termen (e.g., vaccinarea antituberculoasă).

- Vaccinările care vizează răspunsul imun umoral încep odată cu „fereastra imună” pentru a evita eșecul prin *feed back* anticorpic.

- Vaccinarea antitetanică a gravidei (administrarea anatoxinei tetanice) în trimestrul III al sarcinii previne tetanosul *neonatorum*.

6.4. INFECȚIA

„Boala infecțioasă este un fenomen biologic ca celelalte. Ea poartă caracterul vieții care caută a se perpetua, care evoluează și care tinde la echilibru. Orice boală infecțioasă poate prezenta trei moduri de existență: individuală, colectivă și istorică.

...Vor apărea boli noi; vor dispărea lent altele; cele care vor persista nu vor mai avea formele pe care le cunoaștem astăzi.”

CHARLES NICOLLE

Infecția este interacțiunea dintre gazdă și un agent infecțios care depășește barierele antimicrobiene primare fie pentru că are capacitatea de a o face, fie pentru că aceste bariere sunt deficitare. Agenți infecțioși pot fi bacterii, fungi, protozoare, helminți, virusuri. Termenul de **infestare**, pentru precizie semantică, este bine să-l rezervăm interacțiunii gazdei cu un ectoparazit care nu depășește învelișurile externe: e.g., *Sarcoptes*, *Pediculus*, căpușe ori alte artropode. Dacă agentul infecțios determină leziuni minime, care nu perturbă homeostazia gazdei, iar interrelația se limitează doar la răspuns imun, vorbim de **infecție inaparentă**. **Boala infecțioasă** apare când, din cauza leziunilor importante, gazda nu își mai poate menține homeostazia și apar simptome și semne de suferință. Raportul boală infecțioasă/infecție variază cu agentul infecțios: aproximativ 1/1 în cazul virusului rujeolei, 1/400 al virusului poliomielitei, 1/1000 al meningococilor. Importanța infecțiilor inaparente pentru colectivitate este dublă: determină imunitate, dar constituie și surse oculte, periculoase, de infecție.

6.4.1. Clasificarea infecțiilor în raport cu rezervorul agenților infecțioși

Infecțiile exogene apar când sunt întrunite trei condiții indispensabile: un rezervor de agent infecțios, o cale de transmitere și o gazdă receptivă.

Infecțiile endogene sunt determinate de organisme ale microbiotei indigene care au suficient potențial patogen pentru efracția barierelor antiinfecțioase deficitare ale gazdei.

6.4.1.1. Rezervorul de infecție găzduiește agentul infecțios, îi asigură supraviețuirea și înmulțirea. Este reprezentat de om, animale ori natura neanimată.

(1) *Omul ca rezervor de agenți infecțioși:*

- **Pacienți cu boli infecțioase** acute ori cronice.

- **Purtători sănătoși de germeni patogeni**, care pot fi:

- *Purtători contacti* cu pacienți suferinzi de o boală infecțioasă. Pot fi în perioadă de incubatie a bolii sau pot avea infecție inaparentă.

– *Purtătorii convalescenți*. Convalescenții după anumite boli infecțioase rămân perioade variabile purtători sănătoși (e.g., portajul de bacili tifici).

– *Purtătorii cronici*. Uneori portajul nu se limitează la convalescență, ci durează toată viața (e.g., portajul biliar de bacili tifici la persoane care au făcut boala pe fondul unei litiaze biliare).

– *Purtătorii noncontacti* sunt persoane care prin conviețuire în colectivități închise devin colonizați cu tulpini bacteriene specifice acestora: e.g., tulpini bacteriene de spital (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp. etc.).

(2) **Rezervorul animal de agenți infecțioși** include animale domestice, peridomestice și sălbatice. Animalele cu infecție acută rămân rezervor de infecție o perioadă limitată. La șobolani și alte rozătoare leptospirozele evoluează cronic iar leptospirele sunt eliminate continuu prin urină. Tularemia și pesta sunt întreținute permanent printre rozătoarele sălbatice și ectoparaziții lor.

(3) **Natura neanimată poate fi rezervor pentru agenți infecțioși** capabili să se multiplice în sol (e.g., bacilul tetanic, pseudomonade), apă (e.g., *Legionella* spp., vibrioni, pseudomonade), alimente (e.g., salmonele, *Bacillus cereus* ș.a.).

6.4.1.2. Transmiterea infecției presupune eliminarea agentului infecțios din rezervor, contaminarea unor elemente de mediu, care devin căi de transmitere, și o poartă de intrare în organismul gazdei.

Modalitățile de transmitere variază în raport cu natura „deschisă” sau „închisă” a infecției:

(1) Într-o **infecție deschisă** agentul etiologic, începând cu un anumit stadiu al infecției, este eliminat în mediul extern ale cărui elemente contaminate devin tot atâtea căi de transmitere a infecției. Eliminarea agenților infecțioși din organismul bolnavului sau purtătorului sănătos se face prin secreții, excrete, exsudate, scuame, în raport cu situsul de găzduire și leziunile determinate.

Funcție de rezistența agenților infecțioși în mediul extern și doza infectantă, infecția se poate propaga direct sau indirect.

• **Propagarea directă** se poate face prin *contaminare aeropurtată* (picături Flügge), prin *contaminare manupurtată* (mâini contaminate cu secreții nasale, cu urină sau fecale – boli ale „mâinilor murdare”) sau prin *contact direct* (boli cu transmitere sexuală). La transmiterea prin contact direct s-au adaptat în special agenți infecțioși fragili în mediul extern (e.g., *Streptococcus pyogenes*, cocobacilul tusei convulsive, meningococi, gonococi, treponema sifilisului). Variante ale contactului direct sunt *transmiterea transplacentară* (treponema sifilisului, *Listeria monocytogenes* etc.) sau *transmiterea în canalul de naștere* (e.g., streptococii grup B, gonococii, treponema sifilisului, *Chlamydia trachomatis*).

• **Propagarea indirectă**. Agenții infecțioși care persistă virulenți lungi perioade în mediul extern se pot transmite prin pulberi contaminate, nuclei de picături, apa de băut, alimente, apa piscinelor. Pot juca un rol și animale contaminate ca muște, rozătoare ș.a. Exemple de boli infecțioase deschise cu transmitere indirectă pot fi febra tifoidă, holera, tuberculoza etc.

Desigur, această clasificare a modurilor de transmitere a bolilor infecțioase este didactică și are limite inerente. Tuberculoza se poate transmite prin pulberi, nuclei de picături, dar se transmite și prin picături Flügge ori mai rar, anume tuberculoza organelor genitale, prin contact sexual. Dizenteria se transmite hidric și prin alimente, dar, dată fiind doza infectantă foarte mică, poate fi și manupurtată.

(2) Într-o **infecție închisă** bacteria este prezentă adesea pentru un timp în sânge, dar în nici un stadiu al bolii nu se elimină în mediul extern. Agentul infectant trebuie preluat, în momentul pasajului sanguin, de un **vector biologic** și inoculat la o persoană receptivă. Vectori biologici sunt insectele hematofage: țânțari, flebotomi, căpușe, purici, păduchi. Îi putem numi și gazde-vector pentru că în organismul lor agentul infecțios se multiplică și se poate transmite chiar de la o generație la alta până ajunge să fie inoculat la om. Exemple de boli infecțioase închise transmisibile sunt : rickettsiozele, borreliozele ș.a.

Boli infecțioase transmisibile versus nontransmisibile. Nu toate bolile infecțioase sunt transmisibile. Tetanosul, gangrena gazoasă, botulismul sunt netransmisibile pentru că pacienții nu sunt rezervor de infecție.

Bolile infecțioase cu mare transmisibilitate le numim **boli contagioase**. Bolile contagioase sunt uzual infecții deschise. Bolile infecțioase închise sunt transmisibile, dar difuziunea lor într-o populație ține de indicele de infestare cu vectorii biologici. În condițiile unei pediculoze masive tifosul exantematic și febra recurentă pot evolua devastator.

6.4.1.3. Gazda receptivă poate fi o *gazdă normoreactivă* sau o *gazdă compromisă* în sensul unor deficite ale barierelor primare antimicrobiene, dar mai ales ale apărării mediului intern (deficite ale fagocitelor, complementului, răspunsului imun).

6.4.2. Modele patogenetice ale bolilor infecțioase

Modelele patogenetice ale bolilor infecțioase depind de modul răspândirii agentului infecțios de la poarta de intrare în organismul gazdei și de mecanismul prin care produce leziuni (direct *versus* indirect).

(1) **Infecția de suprafață** este determinată de agenți infecțioși (bacterii, virusuri, fungi) care se multiplică numai în vecinătatea porții de intrare: tegumentul sau mucoasele. Aceste infecții rămân localizate (e.g., impetigo, o infecție bacteriană a epidermei; verucile și papiloamele, tumorete virale ale epidermei și respectiv ale mucoaselor cu epiteliu pavimentos stratificat) sau pot difuza, prin continuitate, în suprafață (ca difteria) sau în profunzimea dermului ori corionului mucoaselor când apărarea antiinfecțioasă a gazdei circumscrie aceste focare infecțioase cu prețul unor leziuni (furuncule, microabcese din corionul colonului în dizenterie etc.).

(2) **Extinderea pe cale limfatică.** Agentul infecțios antrenat de curentul limfatic determină *limfangită* și *adenită satelită*, care constituie un filtru în calea infecției, dar poate ajunge uneori la abcedare (e.g., infecțiile cu streptococi piogeni: amigdalită → adenită laterocervicală supurată).

(3) **Generalizarea pe cale sanguină** survine când agentul infecțios este foarte virulent sau apărarea gazdei este deficitară.

Bacteriile ajung în sânge fie direct din leziuni de tromboflebită, de pe suprafața unei mucoase lezate ori după translocare prin epiteliul digestiv, fie indirect prin depășirea barierei ganglionare limfatice. Prezența bacteriilor în sânge o depistăm prin hemoculturi.

• **Bacteriemia** este prezența efemeră a bacteriilor în sânge urmare a unui pasaj/descărcări unice fără gravitate particulară. Clinic rămâne mută sau determină frison și ascensiune termică trecătoare, dar poate determina și localizări septice metastatice (e.g., endocardite infecțioase la pacienții în anumite condiții de risc cum sunt valvulopatiile cardiace).

• **Septicemia** este trecerea repetată, aproape permanentă, în sânge a unei bacterii, a toxinelor sale și produselor de dezintegrare tisulară din focarul de infecție. Evoluția este severă cu posibilitatea unor multiple *metastaze septice* (cutanate, meningiene, viscerele, osoase). Sindromul septicemic este particularizat prin frisoane, febră, toxemie, alterarea stării generale și erupții polimorfe, care traduc metastazele septice cutanate, la care se adaugă simptome și semne care țin de metastazele septice din variate organe.

• Generalizarea pe cale sangvină a virozelor sau micozelor determină **viremii**, respectiv **fungemii** cu localizarea agentului infecțios selectiv, în organele țintă, sau neselectiv.

(4) **Extinderea pe cale nervoasă.** Toxina tetanică ori virusul rabic se propagă spre sistemul nervos central pe calea nervilor periferici.

(5) **Reacțiile de sensibilizare** (☞ Cursul de Imunologie) **în patogenia unor boli infecțioase sau a complicațiilor lor** le vom studia odată cu fiecare agent infecțios în parte.

6.4.3. Etapele bolii infecțioase

Etapele evolutive ale unei boli infecțioase sunt: incubația, debutul, perioada de stare și perioada terminală. Bolile în care această etapizare este bine exprimată sunt numite boli infecțioase cu evoluție ciclică (e.g., scarlatina, febra tifoidă etc.).

(1) **Perioada de incubație** este asimptomatică, focarul de infecție este încă de volum prea redus pentru a antrena manifestări perceptibile. Durata incubației variază cu microorganismul, virulența tulpinii și doza infectantă. Poate fi de câteva ore, ca în toxiinfecții alimentare, de câteva zile, ca în scarlatină, gripă etc., 1-3 săptămâni, ca în febra tifoidă, an, ca în lepră.

(2) **Perioada de debut sau invazie.** Apar primele manifestări clinice, brusc sau insidios, în general nespecifice. Reacția gazdei la microorganismul agresor este încă minimă.

(3) **Perioada de stare.** Acum se manifestă cu intensitate maximă semnele clinice caracteristice diferitelor boli infecțioase, funcție de țesuturile și organele țintă lezate. Reacția gazdei față de microorganismul agresor împiedică progresia infecției, dar poate determina și leziuni prin reacții de sensibilizare (e.g., ulceratii ale plăcilor Peyer și perforații intestinale în febra tifoidă).

(4) **Perioada terminală.** Boala infecțioasă acută se poate vindeca, se poate croniciza sau pacientul poate muri. Când **vindecarea clinică**, adică dispariția simptomelor și semnelor de boală, se însoțește și cu dispariția microorganismului infectant din toate focarele de infecție vorbim de o **vindecare microbiologică**. După vindecarea clinică pacientul rămâne uneori purtător convalescent sau de durată al microorganismului care l-a îmbolnăvit (e.g., bacilul tific), alteori rămâne cu **infecție latentă**. Important de reținut despre infecțiile latente și microorganisme implicate sunt următoarele:

- Uneori sunt bacterii facultativ sau obligat intracelulare care supraviețuiesc latente (organisme dormante) în celulele sistemului reticuloendotelial (e.g., bacilii tuberculozei, treponema sifilisului, rickettsii). Alteori sunt virusuri care determină infecții persistente integrate (e.g., herpesvirusuri).

- Bacteriile facultativ sau obligat intracelulare întrețin starea de imunitate a gazdei, pe care o numim **imunitate de infecție** pentru că dispare odată cu vindecarea microbiologică.

- Persoanele cu infecție latentă nu sunt rezervor de infecție, dar pot redeveni odată cu reactivări ocazionale ale infecției (e.g., tifosul exantematic de recădere, herpesul zoster).

Relațiile microorganism-gazdă umană

• Bacteriile dormante sunt rezistente la antibiotice. Vindecarea microbiologică prin antibioticoterapie a infecțiilor determinate de aceste bacterii poate surveni numai în stadiul acut al infecției, ceea ce este de dorit, chiar dacă vindecarea microbiologică duce la dispariția imunității și convalescentul redevine receptiv (e.g., infecțiile cu bacilii tuberculozei). Dorim această vindecare microbiologică sub tratament pentru că evoluția focarelor latente după infecția cu tulpini sălbatice este imprevizibilă, se poate reactiva. Preferăm o infecție latentă cu o tulpină vaccinantă, avirulentă (e.g., vaccinul antituberculos viu atenuat BCG), care nu se reactivează.

Pacientul cu **infecție cronicizată**, ca și purtătorul sănătos, rămâne rezervor de infecție.

6.4.4. Principalele tipuri de boli infecțioase

După mecanismul de virulență al microorganismelor cauză, diferențiem trei tipuri principale de boli infecțioase:

(i) **Infecții datorate multiplicării unei bacterii invazive netoxigene.** Exemplul tipic este al infecțiilor pneumococice. Practic, singurul factor de virulență al pneumococilor este capsula cu efectul ei antifagocitar. După câteva zile de la debut apar anticorpii opsonizanți care asigură imunitatea antipneumococică. Din același grup mai pot fi citate infecțiile meningococice ori gonococice. Rețineți însă că acești bolnavi nu sunt feriți de complicații grave datorate unor fenomene de sensibilizare ori eliberării masive de endotoxină prin liza bacteriană.

(ii) **Bolile infecțioase cauzate de bacterii invazive și toxigene** sunt cele mai numeroase. Stafilocociile pot fi un exemplu: *S. aureus* produce numeroase toxine, dar în egală măsură și multiplicarea germenului joacă un rol important. Alt exemplu este cel al infecțiilor determinate de streptococi piogeni ș.a.

(iii) **Boli datorate toxinogenezei bacteriene**

• **Toxiinfecțiile.** Exemplul tipic este tetanosul. Sporii de *Clostridium tetani* sunt introduși în plăgi prin pământ. Anaerobioza din țesuturile devitalizate favorizează germinarea sporilor. Bacilul se multiplică strict limitat la poarta de intrare și elaborează toxina tetanică, o puternică exotoxină, care difuzează prin nervi și curentul circulator spre sistemul nervos central. Astfel numai toxina determină boala, în timp ce bacteria producătoare nu depășește focarul infecțios foarte limitat.

• **Intoxicațiile.** Botulismul reprezintă un caz extrem. *Clostridium botulinum* se multiplică în alimente unde își elaborează toxina, cea mai puternică exotoxină. Toxina botulinică nu este distrusă în tubul digestiv de unde se absoarbe și determină singură botulismul, boală caracterizată prin paralizii datorate atingerii neuromusculare. Iată cum o bacterie cu capacitate invazivă slabă sau nulă, dar care produce o toxină foarte puternică, determină o boală gravă, frecvent mortală.

6.4.5. Aspecte ale difuzării bolilor infecțioase în populațiile umane

Bolile transmisibile sau contagioase se pot manifesta sporadic, endemic, epidemic sau pandemic.

• **Manifestarea sporadică** este particularizată printr-un număr redus de îmbolnăviri izolate temporo-spațial, adică fără filiație între ele.

• **Manifestarea endemică** este prezența constantă a unei boli infecțioase, într-o țară sau regiune, cu o frecvență care variază puțin de la un an la altul.

• **Manifestarea epidemică** este creșterea bruscă a frecvenței unei boli infecțioase peste cea estimată pentru o colectivitate și cu filiație demonstrată între îmbolnăviri. Manifestarea epidemică într-o colectivitate redusă (e.g., familie, școală, localitate rurală) o numim

izbucnire epidemică. Pandemia este o manifestare epidemică la scară internațională (e.g., pandemiile de gripă, de holeră).

Infecțiile încrucișate sau interioare apar în colectivități închise unde conviețuirea este strânsă prin activități comune, servitul mesei, instalații tehnico-sanitare comune, dormitoare comune. În aceste condiții incidența infecțiilor și a purtătorilor contacți și non- contacți crește semnificativ. Infecții încrucișate apar în creșe, internate școlare, barăcile șantierelor, cazărmi unde se manifestă ca izbucniri epidemice de dizenterie, enteroviroze, gripă și alte viroze respiratorii, angine streptococice, piodermite, boală meningococică etc. precum și prin frecvență crescută a portajului faringian de *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* și a portajului de antigen HBs.

Infecții încrucișate cu caractere particulare sunt infecțiile intraspitalicești (☞ Capitolul 50) sau infecțiile contractate în cabinete stomatologice.

„...Progresele științei umane vor înarma descendenții noștri din ce în ce mai bine contra tuturor bolilor infecțioase...Dacă civilizația umană ar suferi un regres către un nou ev mediu va fi suprimată valoarea factorului uman, viitorul bolilor infecțioase nu va mai aparține decât naturii.”

CHARLES NICOLLE, 1932

„Declinul actual al pestei nu este începutul unei dispariții, el marchează numai sfârșitul pandemiei moderne. Solid implantată în numeroase puncte din lume, pesta așteaptă viitoarea eroare a omului pentru a porni din baze multiplicare.”

M. BALTAZARD, 1960

Prin controlul infecției înțelegem, în acest manual, prevenirea infecției, la scară individuală sau colectivă, și tratamentul etiotrop al bolilor infecțioase. Profilaxia infecției ameliorează calitatea vieții. Când nu a fost făcută sau a eșuat, terapia etiotropă a bolii infecțioase evită urmările nedorite: sechele, cronicizarea sau decesul, iar prin vindecarea microbiologică mai precoce neutralizează pacientul ca sursă de infecție. Cunoștințele și deprinderile privind antisepsia și aseptia, profilaxia și terapia etiotropă a bolilor infecțioase le veți obține prin studiul Chirurgiei, Epidemiologiei, Farmacologiei și Bolilor Infecțioase. Fondul apercptiv pentru aceste viitoare studii vi-l însușiți însă acum, la cursul de Microbiologie. Iată de ce capitolul de față, al 7-lea, vă va familiariza cu bazele microbiologice ale profilaxiei infecției, antisepsiei, aseptiei și terapiei antimicrobiene. Tot acum vă veți însuși competențele aferente decontaminării microbiene, inițierii și monitorizării terapiei antimicrobiene.

7.1. BAZELE MICROBIOLOGICE ALE PROFILAXIEI INFECȚIEI

DUMITRU T. BUIUC, ANA VORNICU

„Dacă un bărbat va avea curgere din trupul său, pentru curgerea lui este necurat,/ Tot cel ce se va atinge de câte au fost sub cel necurat...Acela, de care se va atinge cel ce are curgere, fără să-și fi spălat mâinile cu apă, să-și spele hainele sale, să se spele cu apă și va fi necurat până seara./ Iar când cel ce are curgere se va curăți de curgerea sa, să numere șapte zile pentru curățirea sa, să-și spele hainele sale, să-și spele trupul cu apă de izvor și va fi curat.”

MOISE, LEVITICUL (15: 2, 10, 11, 13)

Prevenim o boală transmisibilă dacă anulăm cel puțin una dintre cele trei condiții esențiale pentru apariția ei: sursa de agent infecțios, căile de transmitere sau receptivitatea gazdei. Controlul primelor două condiții îl facem prin măsuri nespecifice, comune pentru tipuri de surse și căi de transmitere. Protecția gazdei receptive impune măsuri specifice și numai în circumstanțe particulare recurgem la măsuri nespecifice.

7.1.1. Neutralizarea sursei de infecție

Pentru neutralizarea sursei de agent infecțios alegem, după caz, una dintre cele patru măsuri posibile: izolarea, carantinarea, diluarea sau distrugerea. Modalitatea de neutralizare indicată diferă cu natura sursei și colectivitatea care trebuie protejată.

7.1.1.1. Conduita în colectivități din interiorul unei țări

(1) **Izolarea** este ansamblul de măsuri prin care supraveghem: • *Contactul bolnavului infecțios cu colectivitatea receptivă* și neutralizarea secrețiilor, exsudatelor și excretelor care vehiculează agentul infecțios și pot contamina elemente de mediu. • *Terapia corectă în bolile grave*. Terapia etiotropă, când este necesară și posibilă, scurtează perioada de vindecare microbiologică și, alături de terapia patogenetică, poate salva viața bolnavului.

Pacienții cu boli grave sau cu mare risc pentru colectivitate sunt izolați în spitale. Aceste boli sunt stabilite de către autoritatea sanitară națională și trebuie comunicate, în termen de 48 de ore de la diagnosticare, autorităților sanitare locale, care verifică, prin medicul epidemiolog autorizat, măsurile de terapie, profilaxie și combatere instituite.

În România boli cu acest regim sunt:

(1) Infecții respiratorii sau cu poartă de intrare respiratorie: difteria, meningita cerebro-spinală epidemică, scarlatina, tuberculoza (formele contagioase), variola.

(2) Infecții intestinale sau cu poartă de intrare digestivă: amibiaza (dizenteria amibiană), anchilostomiaza, botulismul, febrele paratifoide, febra tifoidă, poliomiелita și alte enteroneuroviroze paralitice.

(3) Infecții cu transmitere sexuală: infecția gonococică (inclusiv oftalmia neonatală), sifilisul, sindromul imunodeficienței dobândite, șancrul moale.

(4) Infecții cu rezervor animal: antraxul, bruceloza, febra butonoasă, febra Q, leptospiroze, psitacoza, rabia, tularemia.

(5) Alte boli infecțioase neincluse mai sus: febra galbenă, filarioza, hepatitele virale, leishmanioza, lepra, tetanosul, malaria, tifosul exantematic.

Pentru unele dintre aceste boli, ca scarlatina, hepatitele virale ș.a., poate fi permisă izolarea la domiciliu, dar numai cu avizul epidemiologului care a constatat forma clinică și condițiile indispensabile izolării și tratamentului.

Bolile contagioase foarte grave, supuse normelor internaționale de carantină și declarare – holera, pesta, febra galbenă (☞ mai jos) trebuie comunicate telefonic și Ministerului Sănătății în termen de o oră după depistare.

Ideal este ca izolarea să dureze până la vindecarea microbiologică a pacientului, ceea ce nu este totdeauna posibil. Convalescenții care rămân purtători de agent infecțios intră în continuare sub incidența măsurilor de carantină.

(2) **Carantinarea** se adresează oricărei categorii de persoane purtătoare de germeni patogeni. Acestor purtători li se interzic accesul sau activități care pot implica în lanțul epidemic colectivități cu risc față de un anumit agent infecțios. Deci carantinarea purtătorilor este diferențiată. Să urmărim, pentru edificare, câteva exemple: • Purtătorii de *Streptococcus pyogenes*, de bacili difterici, bacili dizenterici, salmonele sunt carantinați față de colectivitățile pediatrice. • Purtătorilor de bacili tifici, bacili dizenterici, vibrioni holerigeni li se interzice, pe toată durata portajului, activitatea în bucătării, unități de alimentație publică ori comerț alimentar cu amănuntul, la instalațiile centrale de alimentare cu apă potabilă. • Purtătorii de *Streptococcus pyogenes* sau tulpini agresive de *Staphylococcus aureus* sunt carantinați față de blocurile operatorii, sălile de pansamente, secțiile de bolnavi arși etc.

(3) **Diluarea** virtualilor purtători de germeni patogeni prin reducerea numărului de persoane în încăperi și ventilare corespunzătoare previne riscul transmiterii infecțiilor aeropurtate, mai ales când proporția purtătorilor sănătoși este mare. Are eficiență pentru

Controlul infecției

prevenirea bolilor determinate de microorganisme foarte fragile care se transmit prin picături Flügge, dar nu prin nucleii de picături sau pulberi (e.g., meningococi, *S. pyogenes*). Reducerea numărului de persoane care folosesc în comun aceeași instalație tehnico-sanitară (WC-te, spălătoare etc.) scade riscul transmiterii infecțiilor manupurtate.

(4) **Distrugerea** sursei de agent infecțios. Este de dorit sacrificarea vitelor bolnave de tuberculoză, de bruceloză ș.a. Deratizarea neutralizează principala sursă de leptospire.

7.1.1.2. Măsurile la frontiere (puncte de trecere rutiere, feroviare, aeroporturi, porturi). Mijloacele moderne, rapide, de transport internațional au modulat carantinarea, care în prezent, în mare măsură, este înlocuită prin certificatele internaționale de atestare a vaccinării și stării de imunitate față de cele trei boli cu regim internațional de carantină: holera, pesta și febra galbenă (variola, a patra boală din această categorie, a fost eradicată). Organizația Mondială a Sănătății editează *Weekly Epidemiological Records*, care consemnează evoluția epidemiologică a bolilor transmisibile în diferite țări. Este prerogativa fiecărui stat de a impune carantinarea sau certificate de vaccinare pentru o boală sau alta, după proveniența călătorilor sau după exigența cu care își apără sănătatea cetățenilor.

În porturi, debarcarea este permisă numai după ce autoritatea sanitară atestă că nici un marinar sau călător nu suferă de o boală infecțioasă absentă în țara respectivă, că nu provin dintr-o țară unde asemenea boală este endemo-epidemică sau că sunt posesori ai unui certificat internațional de vaccinare. În caz contrar nava intră în carantină pe durata maximă de incubare a acestei boli.

În aeroporturi, unde dinamica sosirilor este foarte rapidă, sunt verificate certificatele internaționale de vaccinare, iar călătorii sunt avizați că trebuie să comunice orice îmbolnăvire survenită în următoarele 14 zile de la sosire.

Importurile de animale, carne și produse animaliere sunt de asemenea supuse unui riguros control, care poate merge până la interzicerea totală.

7.1.2. Întreruperea căilor de transmitere

7.1.2.1. Întreruperea transmiterii fecal-orale (prin apă, prin alimente, manupurtată). Exceptând infecțiile intestinale cauzate de consumul cărnii sau laptelui unor animale infectate, majoritatea infecțiilor cu poartă de intrare digestivă sunt datorate contaminării băuturilor și alimentelor cu agenți infecțioși din fecalele bolnavilor sau purtătorilor sănătoși. Întreruperea căilor de transmitere a acestor infecții o realizăm prin măsuri privind: colectarea, evacuarea excretelor, protecția apei și alimentelor de contaminarea fecală.

Colectarea și evacuarea excretelor. Evacuarea prin apă a excretelor într-un sistem de canalizare conectat la bazine de tratare a apei de canal, prin anumite bacterii care distrug bacteriile patogene, înaintea deversării în cursurile de apă sau în mare, este atribut al unei colectivități civilizate. Acesta este unul din factorii principali care au dus la scăderea morbidității prin infecții cu transmitere fecal-orală.

În localitățile rurale, lipsite de canalizare, riscul transmiterii organismelor fecale este mai mare. Aici, pentru colectarea fecalelor, sunt utilizate mai frecvent latrine. Trebuie prevenit, pe cât posibil, accesul muștelor la fecale prin acoperire frecventă cu nisip sau pământ a materiilor fecale și golirea cât mai frecventă a rezervorului cu îngroparea dejectelor până la descompunerea lor completă.

Scutecele sugarilor, oala de noapte și bazinele în care sunt colectate urina și fecalele pacienților imobilizați la pat sunt modalități periculoase de transmitere a organismelor fecale. De prevenirea transmiterii infecției prin aceste căi răspunde direct sora de salon și infirmierele în subordine, care manipulează și decontaminează dotările implicate. Colectarea și prelucrarea

scutecelor din bumbac se fac pe un circuit și într-o încăpere la distanță de oficiul și de bucătăria unde se pregătesc alimentele sugarilor, iar personalul implicat este oprit de la prepararea alimentelor și hrănirea sugarilor.

Controlul apei. Amenajarea sistemelor centralizate de alimentare cu apă din surse purificate, protejate și controlate este un alt factor principal care a determinat declinul morbidității prin infecții cu transmitere fecal-orală. Apa poate fi potabilă de la sursă (izvoare subterane) sau este potabilizată prin precipitarea substanțelor organice, filtre de nisip și adăugare de clor sau ozonizare. În mediul rural este consumată apă din fântâni, care trebuie săpate la distanță de latrină, de grajd și platforma de bălegar, să fie acoperite, să aibă perimetrul înălțat și etanșat împotriva infiltrărilor cu apă de la suprafață.

Periodic sursele de apă trebuie supuse controlului microbiologic pentru depistarea eventualelor contaminări fecale.

În cazuri de forță majoră, când este consumată apa din râuri, lacuri sau când există suspiciunea contaminării fecale a surselor de apă (calamități naturale: inundații, cutremure etc.), apa de băut trebuie fiartă 5 minute sau tratată cu un compus de clor pentru a realiza concentrația finală de 5 ppm clor activ. Alternativ, dar mai puțin eficient, potabilizarea apei o facem cu permanganat de potasiu în concentrație de 20 ppm (culoarea ușor roz a apei).

Controlul alimentelor. Riscul contaminării fecale a alimentelor apare în procesul tehnologic (contaminarea cărnii și laptelui cu conținut intestinal, a zarzavaturilor cu dejectele de îngrășare a solului și din apa de irigare, contaminări de pe mâinile purtătorilor sănătoși) și în cursul păstrării (organisme vehiculate de muște, gândaci de bucătărie, rozătoare). Aceste riscuri pot fi controlate prin:

- Măsuri de igienă individuală: spălarea mâinilor înaintea manipulării alimentelor, după micțiuni și defecare, înainte de masă.
- Carantinarea purtătorilor sănătoși de microorganisme cu poartă de intrare digestivă.
- Consumul alimentelor imediat după prelucrarea termică, proces care distruge organismele patogene.
- Conservarea prin frig a alimentelor care sunt consumate fără prelucrare termică sau care nu au fost consumate imediat după această prelucrare.
- Prezervarea alimentelor de contactul cu muștele, gândacii de bucătărie și rozătoare: dezinfecție, deratizare, plase la geamurile bucătăriilor, capace pe recipientele cu alimente etc.
- Spălarea îngrijită a zarzavaturilor și fructelor care sunt consumate proaspete.
- Spălarea cu apă fierbinte (cca 80°C) și detergent a suprafețelor de prelucrare a alimentelor și veselei din bucătărie asigură omorârea organismelor patogene. Dezinfecția veselei în spitale.

Laptele corect pasteurizat reduce riscul infecțiilor cu transmitere fecal-orală. Când pasteurizarea nu este posibilă, laptele trebuie consumat numai după fierbere.

Laptele praf poate avea o mare încărcătură microbiană. De aceea trebuie preparat cu apă fierbinte și trebuie supus la câteva clocote după preparare. Pentru sugarii hrăniți artificial, laptele preparat poate fi repartizat în biberoane curate și apoi autoclavat ori pasteurizat sau, după fierbere, este introdus în biberoane dezinfectate cu un compus de clor.

7.1.2.2. Întreruperea transmiterii aerogene. Pentru prevenirea acestor infecții sunt indicate următoarele măsuri:

- Reducerea densității microbilor din aer printr-o bună ventilație a încăperilor aglomerate (săli de așteptare, clase etc.).
- Evitarea aglomerărilor în conjunctură epidemică.

- Măsurile de igienă individuală: acoperirea gurii și nasului cu batista în cursul tusei și strănutului. Utilizarea de batiste dispoziabile, îmbibate cu antiseptic, pentru colectarea scurgerilor nasale și a scuipărilor pentru colectarea sputei.

- Portul măștii de tifon peste orificiile nasale și bucal, de către toate persoanele neimunizate care intră în încăperea de izolare a unui pacient cu infecție respiratorie contagioasă.

- Unele virusuri respiratorii se transmit și prin mâini ori obiecte contaminate cu secreții nasofaringiene (clanța ușilor, receptorul telefoanelor fixe etc.). De aceea în conjunctură epidemică este importantă spălarea mâinilor și dezinfectarea suprafețelor posibil contaminate.

Eficiența acestor măsuri este redusă în cazul infecțiilor comune ca guturaiul și gripa. Excepție face tuberculoza dacă bolnavii contagioși expectorează în scuipători acoperite care conțin un dezinfectant puternic, ca fenolul în soluție 5%, iar vesela și lenjeria sunt dezinfectate corect.

7.1.2.3. Prevenirea contaminării plăgilor o studiați și vă însușiți deprinderile necesare la cursul de Chirurgie.

7.1.2.4. Întreruperea transmiterii sexuale ridică cele mai dificile probleme în condițiile actualului libertinaj, a bulversării valorilor morale și etice, amplificate malign prin mijloacele moderne de comunicare în masă. Educația sexuală fără o educație morală și religioasă competente rămâne simplu dresaj pentru animale. Numai groaza de sindromul imunodeficienței dobândite, care a impus contactul sexual protejat, pare a fi dat rezultate prin scăderea de la mijlocul anilor 1980 a masivei endemii postbelice de blenoragie.

7.1.2.5. Întreruperea transmiterii infecțiilor închise implică, după caz:

- Dezinsecția vizând vectorii biologici. Înțelegerea acestor măsuri, mai ales sub aspect practic, cere să vă reamintiți, de la studiul Parazitologiei, cunoștințele privind ciclul biologic al insectelor hematofage.

- Triajul prin metode sensibile a donatorilor de sânge.

- Utilizarea, în condițiile critice pentru contractarea infecției (☞ Subcapitolul 7.2.), de instrumentar cu unică folosință sau dezinsecția, spălarea și sterilizarea eficientă a instrumentarului reutilizabil.

7.1.3. Protecția gazdei receptive

Gazda receptivă o protejăm prin măsuri specifice (imunizare artificială activă sau pasivă), medicamente antimicrobiene sau izolare.

7.1.3.1. Imunizarea artificială activă o facem prin vaccinare. Vaccinurile de calitate, conservate corect, administrate în limita valabilității și conform schemei de imunizare recomandată de producător, conferă protecție specifică la 65-95% din vaccinați. Să urmărim șapte aspecte cu interes practic ale vaccinărilor:

(1) Condiții de eficiență: capacitatea gazdei de a monta și memora răspuns imun, calități imunogene ale vaccinului și interval suficient pentru elaborarea efectorilor imunitari.

(2) Tipuri de vaccinuri:

- *Vaccinurile vii atenuate* sunt tulpini selectate pentru nivelul stabil redus al virulenței. La persoane normoreactive produc infecție inaparentă urmată, în general după o singură inoculare sau un număr limitat de administrări în doze mici, de instalarea unei imunități de durată. Stimulează eficient imunitatea celulară, ceea ce nu realizează alte vaccinuri.

• *Vaccinurile corpusculare inactivate* sunt suspensii microbiene omorâte prin căldură, radiații ultraviolete, fenol, formol sau alcool. Principalul avantaj este costul redus.

• *Vaccinuri cu componente microbiene purificate* sunt reprezentate de anatoxine, polizaharide capsulare, componente ale peretelui bacterian. Induc răspuns imun țintit și evită sau minimizează reacțiile de sensibilizare postvaccinală. Unele polizaharide capsulare (e.g., al *Haemophilus influenzae* tip b) se comportă ca antigene T independente, neimunogene la copii sub vârsta de 2 ani; cuplarea cu o proteină *carrier* (e.g., anatoxina tetanică sau difterică) le transformă în antigene T dependente, imunogene la această vârstă. Asemenea vaccinuri purificate le putem numi vaccinuri conjugate.

• *Vaccinuri clonate* sunt biosintetizate de *Escherichia coli* sau levuri după clonarea genelor care codifică liganzi virali (e.g., antigenul de suprafață al virusului hepatitei B).

• *Vaccinuri sintetice* sunt epitopi sintetici ai antigenelor de virulență. Induc efort imunogen țintit și elimină reacțiile de sensibilizare.

(3) Indicațiile vaccinărilor sunt generale, selective sau electiv.

Vaccinările generale vizează întreaga populație infantilă sau adultă, în raport cu un program guvernamental stabilit în funcție de gravitatea și prevalența într-o țară a anumitor infecții. Așa sunt în România vaccinările anti-tuberculoasă, anti-hepatită cu virus B, încă din maternitate (1-7 zile după naștere), anti-tetanică, anti-difterică, anti-pertussis, anti-poliomielitică, anti-rujeolică, începând cu fereastra imunologică a sugarilor.

Vaccinările selective vizează grupe de populație cu risc crescut de a contracta o anumită infecție. De exemplu: vaccinarea anti-gripală, anti-adenovirus, anti-pneumococică, anti-meningococică a colectivităților militare; vaccinarea anti-gripală sau revaccinarea anti-hepatită cu virus B a personalului medical, vaccinarea anti-holerică a turiștilor în arii endemice de holeră, vaccinarea anti-tifoidică în conjunctură epidemică ș.a.

Vaccinările electiv vizează pacienți sau categorii de pacienți la care anumite infecții sunt mai frecvente și mai grave decât în populația generală. De exemplu, vaccinarea anti-rabică a persoanelor mușcate de animale, vaccinarea anti-*Pseudomonas aeruginosa* a pacienților arși, vaccinarea anti-gripală a pacienților cu boli respiratorii cronice și cardiace, a diabeticii, vârstnicilor etc.

(4) Calea de administrare a vaccinurilor este în general cea parenterală. Această cale nu stimulează însă producerea de anticorpi IgA secretori. De aceea, când bariera imună a mucoaselor este esențială pentru o protecție eficientă există interesul administrării de vaccinuri atenuate pe cale orală pentru stimularea producerii de IgA secretor.

(5) Complicațiile vaccinărilor sunt în principal:

Boala infecțioasă indusă prin vaccinuri vii atenuate la persoane cu deficiențe ale apărării imune. Dacă reacția organismului adult la vaccinurile virale atenuate este cunoscută, reacția embrionului este alta. Așa este demonstrat efectul teratogen al vaccinului rubeolic administrat la gravide. Boala infecțioasă prin tulpini insuficient atenuate este foarte rară datorită controalelor riguroase pe care le impune astăzi avizarea unui vaccin.

Accidente alergice. Reacții anafilactice, reacții de tip Arthus sau reacții citolitice-citotoxice mediate prin anticorpi sau mediate celular se pot datora impurităților antigenice provenite din substratul de cultivare a tulpinii vaccinante (ou embrionat, antibiotice din mediul de întreținere al culturilor celulare) sau chiar antigenelor vaccinante. Reacții de tip Arthus s-au înregistrat după vaccinarea cu virus respirator sincițial sau anti-pneumococică la persoane care posedau anticorpi față de una din componentele vaccinului. Encefalomielite alergice apăreau după administrarea vaccinului anti-rabic preparat pe creier de iepure, dar nu

se înregistrează la vaccinul preparat pe embrion de rață decapitat ori pe culturi de celule.

(6) Contraindicațiile vaccinărilor sunt temporare și definitive.

Contraindicații temporare: • Sarcina contraindică administrarea vaccinurilor virale atenuate, iar sarcina este contraindicată în următoarele trei luni după o asemenea vaccinare. Restricția nu vizează anatoxinele și vaccinurile inactivate. • Bolile febrile acute pot fi agravate prin stresul vaccinal. Potențialul imun al organismului este mobilizat de microbul infectant și vaccinul poate rămâne inefficient. Infecția virală poate interfera cu infecția prin vaccinul viral atenuat. Unele viroze (gripa, rujeola ș.a.) deprimă răspunsul imun. • Este contraindicată vaccinarea sugarilor aflați încă sub protecția anticorpilor materni deoarece aceștia deprimă, prin *feedback* anticorpice, răspunsul imun față de vaccin.

Contraindicații permanente: • imunodeficiențele contraindică administrarea vaccinurilor atenuate; • în general, sensibilizările atopice contraindică vaccinările.

(7) Calendarul vaccinărilor. Vaccinurile care stimulează numai imunitatea celulară și vizează întreaga populație (e.g., vaccinul anti-tuberculos) sunt administrate în prima săptămână după nașterea copiilor normoponderali; cele care stimulează imunitatea umorală (majoritatea vaccinurilor) trebuie administrate cel mai devreme la apariția ferestrei imunologice a sugarului.

7.1.3.2. Imunizarea artificială pasivă, seroprofilaxia. Marcăm șase aspecte cu interes practic:

(1) Utilizăm anticorpi preformați, prin vaccinare și revaccinare, *de un organism donator*: animal, (seruri hiperimune heterologe) sau uman (imunoglobuline omologe).

(2) Protecția asigurată este imediată, chiar la gazda imunoreactivă, dar este o protecție limitată prin catabolismul imunoglobulinelor, răspunsul imun față de proteinele heterologe și lipsa memoriei imunologice.

(3) Indicații:

Protecția pacienților agamaglobulinemici față de infecții cu bacterii piogene ori viroze cu fază viremică impune administrarea periodică a unor doze mari de imunoglobuline.

Protecția nevaccinaților în condiții de risc pentru contractarea unor toxiinfecții sau viroze grave (tetanos și gangrenă gazoasă în cazul plăgilor; difterie, tuse convulsivă, hepatită A sau B la contact).

Tratamentul unor toxiinfecții sau intoxicații grave (difterie, botulism, tetanos etc.) impune administrarea de antitoxine în doze mari.

(4) Accidente și incidente:

Șocul anafilactic (☞ sensibilizarea prin mecanism de tip I) în orice administrare repetată a anticorpilor heterologi sau la pacienți cu atopii;

Boala serului (☞ mecanismul III de sensibilizare prin complexe imune circulante) apare în cazul seroterapiei.

(5) Preparate pentru imunizări pasive:

(i) *Seruri hiperimune heterologe brute*; sunt mai ieftine, dar expun la riscul șocului anafilactic și bolii serului.

(ii) *Seruri hiperimune heterologe purificate și concentrate*; riscul șocului anafilactic persistă, dar este practic eliminat riscul bolii serului.

(iii) *Imunoglobulinele umane hiperimune specifice* sunt: scumpe, indicate pentru profilaxie și terapie; minimizează riscul șocului anafilactic și îl elimină pe cel al bolii serului.

(iv) *Gamaglobuline umane standard* sunt separate din amestec de plasmă de la adulți sănătoși, conțin variați anticorpi la titruri mici sau moderate și sunt indicate numai pentru profilaxie.

(6) **Calea de administrare:** intramusculară, iar în terapia cazurilor grave intravenoasă. Agregatele moleculare rezultate în urma separării imunoglobulinelor activează necontrolat complementul și determină șoc după administrare intravenoasă. Pot fi utilizate pe cale intravenoasă numai imunoglobuline special pretratate de producător pentru disocierea agregatelor moleculare.

7.1.3.3. Chimioprofilaxia. Administrarea unui chimioterapic poate preveni o infecție sau complicații ale unei boli infecțioase.

Eficiența este imediată, dar numai pe durata administrării medicamentului.

Indicațiile, restrictive, sunt individuale sau colective:

- Indicații individuale: (i) Prevenția infecției (e.g., chimioprofilaxia tetanosului și gangrenei gazoase la pacienți cu plăgi; profilaxia primară a bolilor poststreptococice prin penicilinoterapia streptocociilor). (ii) Prevenția unei infecții latente contractată natural în condiții de mare risc (e.g., chimioprofilaxia tuberculozei la copiii cu virajul intradermoreacției la tuberculină sau surprinși cu salt tuberculinic în condițiile contactului ori conviețuirii cu un bolnav de tuberculoză contagios).

- Indicații colective: stingerea unei izbucniri epidemice în colectivități închise (e.g., boală meningococică).

Dezavantajele chimioprofilaxiei pot fi individuale (disbioze) sau colective (amplificarea, prin selecție, a fondului genic de rezistență la antibiotice).

7.1.3.4. Izolarea de protecție privește gazda imunocompromisă prin boală de fond sau imunosupresie: spitalizare sub cort steril ori în boxă cu aer sterilizat, cu presiune pozitivă și cu regim sever de acces (fig.7.1).

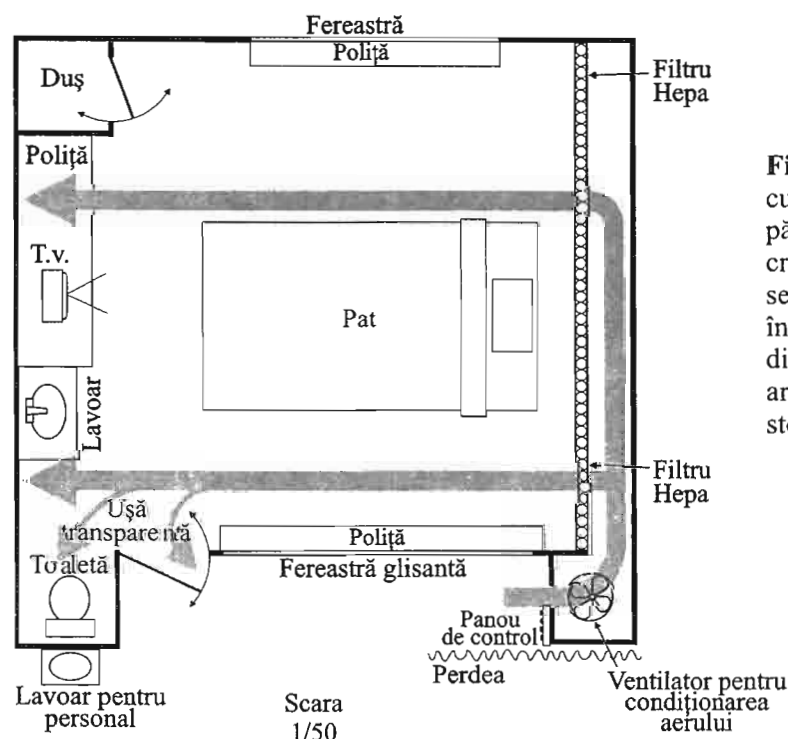


Fig. 7-1 Izolator de protecție cu curent de aer laminar, aerul filtrat pătrunde dinspre capul bolnavului, creează presiune ușor pozitivă și se elimină prin extremitatea opusă încăperii (săgețile). Toate efectele din cameră sunt sterile iar personalul are acces numai cu echipament steril.

7.2. ACȚIUNEA AGENȚILOR FIZICI ȘI CHIMICI ASUPRA MICROORGANISMELOR

GABRIELA COMAN

„Dacă examinăm o sondă la microscop, vom găsi pe suprafața sa neregularități unde se fixează pulberi pe care spălarea cea mai minuțioasă nu le poate îndepărta complet. Flacăra permite să distrugem complet aceste pulberi organice. Astfel în laboratorul meu unde sunt învelit de germenii de toate felurile, nu mă servesc de un instrument fără să-l fi trecut mai întâi prin flacăra.”

LOUIS PASTEUR

„Cercetările lui Koch relative la acțiunea antisepticelor sunt foarte precise...A luat de exemplu spori de antrax înșirați pe fire de mătase și pe acestea le-a pus în urmă în diferite soluțiuni desinfectante, le-a examinat la diferite intervale și a obținut rezultatele...”

VICTOR BABES, Cursul de Bacteriologie 1892

Microorganismele sunt puternic influențate de factori fizici și chimici ai ambientului, în anumite limite aceștia având un efect favorizant (☞ Subcapitolul 3.2.3.). Modificări de intensitate a factorilor fizici și de concentrație a celor chimici pot determina un efect defavorabil: fie **-cid**, de omorâre a microorganismelor, fenomen ireversibil (bactericid, virulicid, fungicid, sporicid), fie **-static**, de oprire reversibilă a multiplicării (bacteriostatic, fungistatic).

În aceste condiții, agenții fizici și chimici sunt deosebit de importanți în controlul infecției, fiind utilizați în sterilizare, dezinfecție sau preservare.

Sterilizarea se referă la metode de distrugere sau îndepărtare a tuturor microorganismelor, inclusiv a endosporilor bacterieni. **Dezinfecția** constă în distrugerea microorganismelor, dar nu obligatoriu a sporilor, a micobacteriilor și a virusurilor nude. **Prezervarea** este prevenirea multiplicării unor microorganisme în produse farmaceutice, alimentare etc.

7.2.1. Factori care influențează eficiența antimicrobiană

Acțiunea oricărui agent antimicrobian poate fi favorizată sau inhibată în anumite condiții.

Intensitatea și timpul de acțiune: timpul de omorâre a microorganismelor variază invers proporțional cu intensitatea agenților antimicrobieni; e.g., într-un tratament termic, o expunere mai lungă va compensa o temperatură mai joasă (tabelul 7-1).

Influența mediului în care se exercită acțiunea antimicrobiană:

- substanțele organice pot reduce considerabil acțiunea unor agenți fizici sau chimici, e.g., compuși organici din produse biologice pot inactiva multe din substanțele dezinfectante sau pot să împiedice difuziunea lor;
- turbiditatea mediului se opune acțiunii unor agenți antimicrobieni, e.g., razele UV sunt eficiente numai într-un mediu lichid perfect limpede;
- duritatea apei poate diminua acțiunea unor dezinfectante, e.g., a compușilor de amoniu cuaternar;
- pH-ul mediului, acid sau alcalin, la anumite valori poate intensifica sau inhiba acțiunea unor agenți antimicrobieni.

Tabelul 7-1 Variația timpului minim de expunere în raport cu temperatura în sterilizarea prin căldură

Procedeu	Temperatură (°C)	Timp (min)
Căldură uscată	160	120
	170	60
	180	30
Căldură umedă	121	15
	126	10
	134	3

Gradul de rezistență a microorganismelor: diverse microorganisme manifestă diferențe în sensibilitatea lor la agenți fizici sau chimici (fig.7-2). Unele specii de bacili gram-negativi ca *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Proteus spp.*, *Providencia stuartii* prezintă rezistență față de multe antiseptice și dezinfectante; în plus, într-o populație bacteriană aparținând aceleiași specii pot exista diferențe individuale de sensibilitate, bacteriile active metabolic fiind mai sensibile față de cele în stare dormantă.

Concentrația microorganismelor: pentru aceeași intensitate a unui agent antimicrobian, timpul de omorâre crește proporțional cu concentrația acestora, fenomen cunoscut sub numele de efect populațional (prin acțiunea protectoare a celulelor moarte asupra celor supraviețuitoare) (fig.7-3).

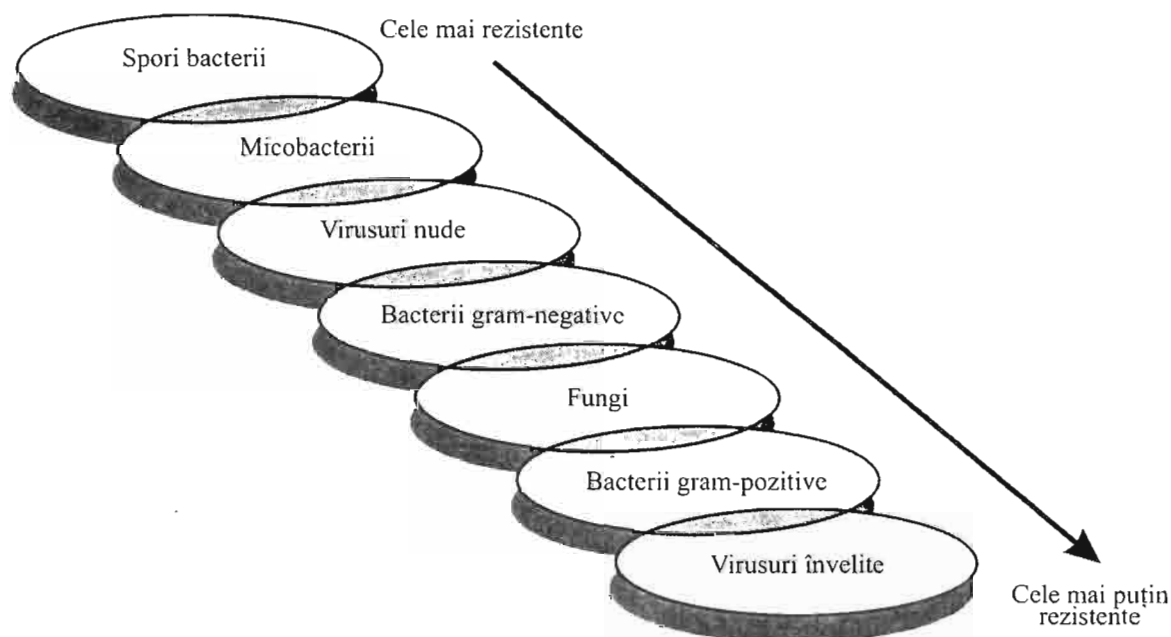


Fig. 7-2 Rezistența la agenți antibacterieni a diferitelor tipuri de microorganisme

7.2.2. Agenți fizici folosiți în controlul infecției

7.2.2.1. Căldura este cea mai importantă, temperaturile ridicate omoară cel mai eficient formele vegetative și sporii. Sterilizarea prin căldură este cea mai folosită în practica

Controlul infecției

medicală, fiind economică, ușor de realizat și controlat; în utilizarea sa, trebuie ținut seama ca produsul supus sterilizării să nu se degradeze la temperaturi înalte. Căldura umedă este mai nocivă decât căldura uscată, ea omoară microorganismele prin coagularea proteinelor. Căldura uscată tinde să deshidrateze celulele, iar desicția face ca unele celule să intre într-o stare inactivă, ceea ce determină ca temperaturi mai înalte să fie necesare în realizarea efectului -cid obținut printr-un proces de oxidare.

Căldura umedă poate fi utilizată în dezinfecție sau sterilizare, în raport cu realizarea unor temperaturi sub, la sau peste 100°C.

(1) **Temperaturi mai mici de 100°C.** În soluții apoase, microorganismele mezofile și psihrofile în formă vegetativă sunt distruse la temperaturi sub 100°C; cu cât temperatura este mai ridicată, cu atât se scurtează timpul de expunere. Temperatura de 60°C timp de 30 minute a fost folosită de Pasteur în tratarea vinurilor pentru distrugerea bacteriilor responsabile de degradarea acestora. Ulterior același principiu, 72°C timp de 15 secunde, este folosit în condiții industriale la **pasteurizarea laptelui**, vizând distrugerea microorganismelor patogene ce pot fi vehiculate de la animale (*Mycobacterium bovis*, *Brucella* spp., *Coxiella burnetii*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus zooepidemicus*), cu conservarea calității și proprietăților organoleptice naturale ale acestui produs alimentar; refrigerarea la 4°C imediată expunerii termice este necesară pentru inhibarea multiplicării bacteriilor relativ rezistente, responsabile de acidularea laptelui. Controlul acestei metode poate fi realizat prin testul fosfatazei, enzimă prezentă în lapte și inactivată prin pasteurizare.

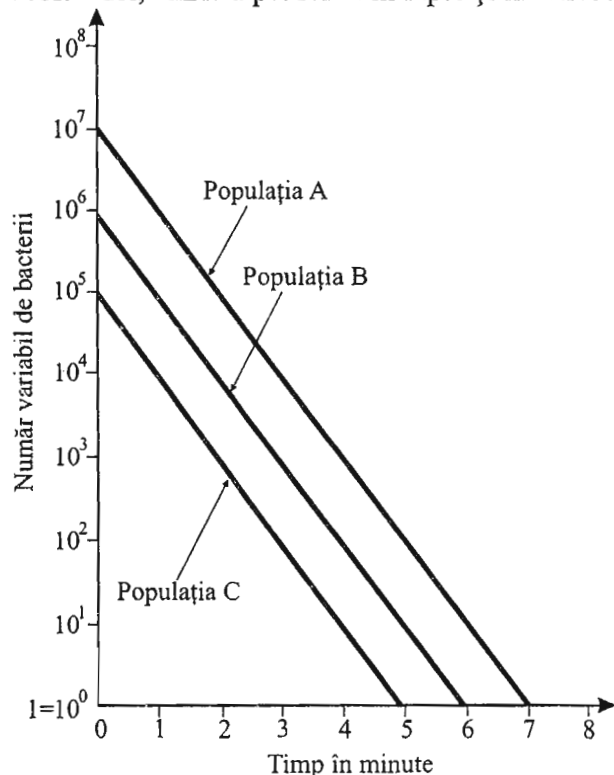


Fig. 7-3 Relația între timpul de expunere la un agent antimicrobian și numărul de microorganisme (timpul necesar de omorâre pentru trei ipotetice populații bacteriene)

Deși unii spori bacterieni sunt distruși la 80°C, temperaturi sub 100°C nu pot fi folosite, într-o singură expunere, pentru sterilizare. **Tyndallizarea** este o metodă de sterilizare a unor produse biologice afectate de temperaturi ridicate (medii de cultură, alimente etc.). Se realizează la temperaturi între 60-100°C, în baia de apă sau nisip, prin expuneri zilnice succesive (3 zile sau mai mult), timp de 30-60 minute; în intervalul dintre expuneri produsele respective sunt menținute la temperatura camerei, ceea ce permite germinarea sporilor, formele vegetative care rezultă fiind distruse la al doilea sau următoarele tratamente termice.

(2) **Temperatura de 100°C**, temperatura de fierbere a apei sau a vaporilor de apă nepresurizați (în autoclav cu robinetul de vapori deschis) omoară formele vegetative ale bacteriilor, aproape toate virusurile și fungii în cca. 10 minute sau mai rapid; endosporii și unele virusuri pot supraviețui, e.g., virusul hepatitei B poate fi distrus în 30 minute iar unii endospori bacterieni pot rezista mai mult de 20 ore. În aceste condiții

fierberea reprezintă o metodă de dezinfecție, putând fi folosită pentru decontaminarea apei de băut, a alimentelor, a biberoanelor, a lenjeriei, a instrumentarului necesar în intervenții

urgente de mică chirurgie în absența celui steril. Dezinfecția folosind fierul de călcat cu aburi distruge bacteriile în formă vegetativă în 5-10 secunde.

(3) **Temperaturi peste 100°C** realizează sterilizarea în aparate numite **autoclave**, care folosesc vapori de apă sub presiune. Creșterea temperaturii este direct proporțională cu presiunea: la 0,5 atmosfere corespund 115°C, la 1 atmosferă – 121°C, la 2 atmosfere – 134°C. Prezența aerului compromise sterilizarea.

Există diferite tipuri de autoclave în raport cu domeniul de utilizare (recomandăm studenților vizitarea stației de sterilizare din cadrul blocurilor operatorii din clinicile chirurgicale), fiind sterilizate prin această modalitate toate materialele care nu sunt afectate de temperatură, presiune sau umiditate. La modul general, autoclavul reprezintă o incintă cu axul vertical sau orizontal, cu pereți metalici rezistenți și un sistem de închidere ermetică, în care vaporii de apă se comprimă la presiunea necesară sterilizării.

În laboratoarele de microbiologie folosim mai ales autoclave verticale cu perete simplu, indicate pentru sterilizarea soluțiilor (e.g., medii de cultură), a sticlăriei de laborator cu destinații speciale și a bioreziduurilor (culturi microbiene, produse biologice). În acest tip de autoclav, spațiul de vaporizare a apei este comun cu cel destinat sterilizării materialelor: vaporii provin din apa aflată la 2-3 cm sub un grătar mobil pe care sunt așezate materialele respective (de preferat de același tip). Circulația liberă a vaporilor de apă printre obiecte și în interiorul ambalajelor este esențială. În partea superioară a autoclavului există un manometru care indică presiunea vaporilor din interior, un robinet de evacuare a aerului sau a vaporilor de apă din incintă și o supapă de siguranță ce se deschide numai când presiunea vaporilor depășește limita de siguranță. Sursa de căldură poate fi flacăra unui arzător cu gaz sau rezistențe electrice. Temperatura și timpul de sterilizare la autoclavele moderne pot fi programate electronic, respectându-se recomandările producătorului din cartea tehnică a aparatului.

Principii generale de utilizare:

- asigură-te că există apă suficientă în interiorul autoclavului;
- introdu materialele de sterilizat în ambalajele lor (flacoane, căldări etc.) și închide capacul, având grijă ca robinetul de evacuare a aerului să fie deschis;
- pune în funcție sursa de căldură și închide robinetul numai după ce te-ai asigurat că aerul din incintă a fost evacuat;
- urmărește realizarea temperaturii de sterilizare și a timpului corespunzător de menținere a acesteia; cel mai frecvent folosim temperatura de 121°C timp de 15-30 minute (materialele voluminoase solicită prelungirea timpului de sterilizare prin prelungirea timpului de egalizare, necesar pentru ca materialele din autoclav să atingă temperatura de sterilizare); bioreziduurile trebuie sterilizate o oră;
- după realizarea celor doi parametri, întrerupe sursa de căldură;
- după ce presiunea interioară a ajuns la zero, deschide lent robinetul de evacuare a vaporilor (deschiderea robinetului înainte ca presiunea să coboare la zero determină intrarea bruscă în fierbere a lichidelor din recipiente pe care riscă să le spargă);
- lasă materialele sterilizate, pentru uscare, în autoclavul cu capacul deschis, manipularea lor fiind posibilă după ce temperatura a coborât sub 80°C.

Controlul eficienței sterilizării este realizat prin **indicatori chimici**, pentru fiecare ciclu de sterilizare și **indicatori biologici**, folosiți săptămânal. Indicatorii chimici comercializați în prezent sunt capabili să dea informații, prin virajul de culoare, asupra respectării celor doi parametri, temperatură și timp, spre deosebire de cei clasici (floarea de sulf, acidul benzoic, fenacetina) care nu permiteau aprecierea timpului cât s-a menținut temperatura de sterilizare. Ca indicatori biologici folosim 10^6 spori de *Bacillus stearothermophilus* în fiole cu medii de cultură (această specie are cel mai rezistent spor la

sterilizarea prin căldură umedă). După sterilizare, distrugerea sporilor este atestată prin absența cultivării la $57^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, după 48 ore. În paralel, pentru controlul viabilității sporilor și a condițiilor de cultivare, incubăm o fiolă care nu a fost supusă sterilizării; pozitivarea culturii este evidențiată de virarea culorii indicatorului (CD.7-1).

Căldura uscată este folosită în sterilizare într-o serie de situații în care nu putem utiliza căldura umedă, recurgând la diferite procedee: sterilizarea cu aer cald, flambarea, încălzirea la roșu, incinerarea.

(1) **Sterilizarea cu aer cald** se realizează în **etuvă**, cutie metalică cu pereți dubli termoizolați, prevăzută cu rezistențe electrice pentru încălzirea aerului, un termostat ce permite menținerea constantă a temperaturii la valoarea programată și un ventilator ce asigură uniformizarea temperaturii aerului din incintă; un termometru plasat într-o zonă vizibilă indică temperatura din interior. Pot fi sterilizate prin această metodă obiecte din sticlă (eprubete, pipete, baloane etc.) sau porțelan (mojare), instrumentar metalic (pense, bisturie, foarfece etc.) afectat de umiditatea din autoclavul cu perete simplu, pulberi inerte higroscopice (talc) sau substanțe uleioase nepenetrabile de căldura umedă, repartizate în volum redus în recipiente cu suprafața mare.

Principii generale de utilizare:

- așează ambalajele cu materialele pentru sterilizare pe rafturile etuvei, lăsând spații prin care aerul fierbinte să circule liber și închide ușa etuvei;

- programează temperatura de sterilizare la 170°C - 180°C (la temperaturi superioare ambalajele din hârtie și dopurile de vată devin sfărâmițicioase, neputând asigura protecție ulterioară, iar gudroanele degajate pot avea efect antimicrobian) și conectează etuva la sursa de curent;

- marchează timpul în momentul în care a fost atinsă temperatura de sterilizare;

- menține această temperatură timp de 60 minute (timpul poate fi prelungit în cazul obiectelor sau substanțelor voluminoase), după care întrerupe sursa de curent;

- scoate materialele sterilizate numai după răcirea etuvei.

Controlul eficienței sterilizării la etuvă se realizează pentru fiecare lot de materiale prin **teste chimice** moderne, a căror culoare virează corespunzător numai când sunt respectați cei doi parametri ai sterilizării, temperatura și timpul. Teste chimice ce utilizau substanțe cu un punct de topire apropiat de temperatura de sterilizare la etuvă (zaharoză, tiouree) au fost părăsite întrucât nu ofereau informații despre timpul cât era menținută această temperatură. **Controlul microbiologic**, realizat săptămânal, îl facem prin benzi din hârtie de filtru impregnate cu 10^6 spori de *Bacillus subtilis*, care după sterilizare sunt aseptice transferate în eprubete cu 10 ml mediu de cultură, menținute la $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; culturile vor rămâne negative după 48 ore dacă sterilizarea a fost corespunzătoare.

Înainte de a fi introduse în autoclav sau etuvă, materialele respective vor fi pregătite corespunzător (spălate, uscate, ambalate), pentru a se asigura sterilizarea la parametri menționați și menținerea în timp a condiției de steril a acestora (discuții detaliate și demonstrații în cadrul orelor de lucrări practice).

(2) **Flambarea** constă în trecerea rapidă și repetată, timp de câteva secunde, prin flacăra unui bec de gaz a obiectului de sterilizat: gura eprubetelor sau a flacoanelor înainte și după însămânțare, suprafața externă a capilarului pipetelor Pasteur după ruperea vârfului, tija ansei sau firului de însămânțare etc.

(3) **Încălzirea la roșu** constă în menținerea firului metalic al ansei în flacăra unui bec de gaz până la incandescență, înainte și după utilizare.

(4) **Incinerarea** în crematorii (arderea până la cenușă) se realizează pentru distrugerea materialelor contaminate din plastic, a reziduurilor organice, a cadavrelor animalelor inoculate etc.

7.2.2.2. Frigul. Efectul temperaturilor scăzute depinde de specia microbiană și intensitatea frigului. De exemplu, temperatura din frigider ($0^{\circ}\text{--}7^{\circ}\text{C}$) are pentru majoritatea microorganismelor un efect bacteriostatic, **refrigerarea** fiind modalitatea de conservare a culturilor microbiene, produse biologice, alimente etc. Sunt bacterii care mor în aceste condiții (*Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* etc.) sau dimpotrivă pot să se multiplice (microorganisme psihrofile sau psihrotrofe).

Congelarea, mai ales lentă, la temperaturi mai ridicate de -20°C are frecvent efecte microbicide prin alterări structurale determinate de constituirea cristalelor de apă în interiorul celulei și pierderea conținutului celular datorită lezării membranei citoplasmatică. Congelarea rapidă la temperatura de -80°C într-un mediu protector (bulion glicerinat) poate asigura, indefinit, menținerea în stare vie a microorganismelor, în aceste condiții având loc solidificarea amorfă a apei intracelulare, fără apariția cristalelor de gheață.

Șocul rece este un proces prin care bacteriile gram-pozitive sau gram-negative pot fi omorâte prin scăderea bruscă a temperaturii, fără să se ajungă la congelare. Așa, 95% din celulele unei suspensii de *Escherichia coli* mor când are loc trecerea bruscă de la 45°C la 15°C . Efectul letal al șocului termic, mai atenuat pentru bacteriile în fază staționară sau în mediu cu cationi bivalenți, este datorat, probabil, coeficientului diferit de contracție prin răcire al structurilor celulare.

7.2.2.3. Desicarea. Sporii bacterieni, fungici și chisturile protozoarelor sunt deosebit de rezistente în condiții de uscăciune, endosporii bacterieni putând supraviețui zeci de ani. Rezistența formelor vegetative variază cu specia sau condițiile de mediu: *N. gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* pot muri în mai puțin de o oră, în timp ce *Mycobacterium tuberculosis* poate rămâne viabil luni de zile. Rezistența formelor vegetative la desicație poate fi mult mai mare dacă acestea sunt incluse în spută, puroi sau fecale uscate. Temperatura scăzută, mediul proteic și lipsa O_2 protejează microorganismele față de efectele nocive ale deshidratării, principiu pe care se bazează **liofilizarea**, metodă folosită pentru conservarea îndelungată a unor tulpini microbiene de colecție; constă în congelarea bruscă a unei suspensii microbiene într-un mediu protector, urmată de uscarea rapidă în vid și apoi închiderea ermetică a fiolelor.

7.2.2.4. Presiunea osmotică. Mediul hipertonic care determină plasmoliza celulelor bacteriene poate bloca multiplicarea și în final determina moartea acestora. Acest principiu este utilizat în prezervarea unor alimente prin saramurare sau în prezența unor concentrații crescute de zaharoză (dulceață, sirop).

7.2.2.5. Radiațiile au efecte diferite asupra microorganismelor, în raport cu lungimea de undă și durata de acțiune.

Radiațiile neionizante cum sunt UV afectează replicarea ADN celular, fiind cu efect intens microbicid la lungimea de undă de 260 nm; un dezavantaj major este slaba lor penetrabilitate. Lămpi de UV sunt folosite la dezinfecția aerului din sălile de operație, boxe pentru lucru aseptice, suprafețe de lucru în laboratorul de microbiologie.

Radiațiile ionizante ca raze X, raze gamma au o lungime de undă mult mai scurtă decât a celor neionizante, în general mai mică de 1 nm, având o importantă penetrabilitate. Determină ionizarea apei cu formare de radicali toxici hidroxil ($\text{OH}^{\cdot}$) care acționează asupra componentelor celulare, în special ADN. Radiațiile gamma sunt utilizate pentru sterilizarea, în condiții industriale, a unor materiale degradabile prin căldură, cu folosire unică în practica medicală: seringi din material plastic, mănuși chirurgicale, materiale de sutură sau catetere; de asemenea au utilizare și în industria alimentară. Benzi impregnate cu 10^6 spori de *Bacillus pumilus* servesc pentru controlul microbiologic al eficienței sterilizării prin această metodă.

7.2.2.6. Filtrarea este trecerea unui lichid sau gaz printr-un material poros. Când porii sunt suficient de mici ($0,22\ \mu\text{m}$) sunt reținute marea majoritate a bacteriilor (fac excepție unele bacterii flexibile ca spirochete sau micoplasme). Filtrarea constituie o metodă de decontaminare a aerului (în sălile de operație sau în izolatoare de protecție) sau a unor soluții degradabile prin căldură (medii de cultură, soluții de antibiotice etc.). Filtre cu pori de $0,01\ \mu\text{m}$ sunt capabile să rețină inclusiv virusurile mici, fiind cu efect sterilizant în adevăratul sens al cuvântului.

Bujii filtrante din porțelan (filtre Chamberland), pământ de infuzori (filtre Berckefeld), plăci filtrante din azbest impregnat cu caolin (filtre Seitz) sau sticlă poroasă (filtre Schott) au fost înlocuite în prezent cu membrane din acetat de celuloză (filtre Millipore) montate în dispozitive care asigură filtrarea prin aspirare (fig.7-4) sau prin presiune pozitivă.

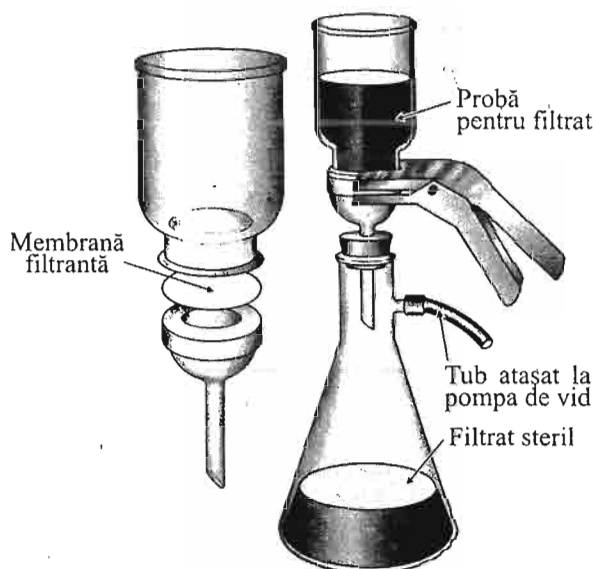


Fig.7-4 Sterilizare prin membrană filtrantă (Millipore)

7.2.3. Agenți chimici folosiți în controlul infecției

7.2.3.1. Antiseptice și dezinfectante. În această categorie intră compuși chimici cu efect antimicrobian:

- **de nivel înalt**, care distrug toate microorganismele, dar nu în mod necesar sporii bacterieni (e.g., glutaraldehida 2%, cloramina B 2%);

- **de nivel mediu**, care distrug formele vegetative ale bacteriilor, inclusiv *Mycobacterium tuberculosis*, fungii și multe virusuri; unele virusuri nude (enterovirusuri, rinovirusuri) și endosporii bacterieni pot rezista (majoritatea antisepticelor și dezinfectantelor, ca alcoolul etilic sau izopropilic 50-70%, iodofori, compuși fenolici);

- **de nivel jos**, care distrug majoritatea formelor vegetative ale bacteriilor și fungilor, dar nu micobacteriile, endosporii bacterieni și virusurile nude (e.g., compuși de amoniu cuaternar, clorhexidina).

Diferența între cele două categorii ține de utilizarea lor:

- antisepticele sunt folosite pe tegument (intact, plăgi) sau pe mucoase (bucală, nasală, conjunctivală, vaginală);

- dezinfectantele, mai toxice, sunt folosite numai pentru suprafețe inerte.

Este posibil ca aceeași substanță chimică să fie folosită atât ca antiseptic cât și ca dezinfectant, în raport de concentrație.

Antisepticele și dezinfectantele sunt compuși cu toxicitate neselectivă; pot leza membranele celulelor, pot denatura starea coloidală a proteinelor sau bloca grupări chimice libere ale enzimelor, pot altera acizii nucleici, frecvent având ținte multiple de acțiune (tabelul 7-2).

În prezent sunt comercializate noi dezinfectante și antiseptice, unele reprezentând un amestec de compuși chimici, cu efect antimicrobian sporit, a căror utilizare necesită respectarea indicațiilor producătorului. În general, (a) soluțiile de lucru se prepară în

Tabel 7-2 Antiseptice și dezinfectante folosite mai frecvent în practica medicală

Mecanism principal de acțiune	Reprezentanți	Utilizare
Denaturează starea coloidală a proteinelor Blochează grupările libere ale enzimelor: -SH, -COOH, -NH₂	Alcooli : alcool etilic (50-70%) alcool izopropilic (50-70%)	Antiseptice pentru piele
	Peroxizi peroxid de hidrogen (3-6%)	Antiseptic pentru plăgi
	Halogeni clor gazos	Dezinfecția apei potabile, a apei din piscine
	cloramină B (0,1-2%)	Antiseptic pentru piele în concentrații joase, dezinfectant pentru suprafețe, sticlărie de laborator în concentrații mai mari
	hipoclorit de sodiu (0.5%) (soluție Dakin)	Antiseptic pentru plăgi
	tinctura de iod (2% în alcool 70%)	Antiseptic pentru piele și plăgi superficiale
	iodofori: povidon –iodin (1-2%)	Antiseptic pentru piele și plăgi superficiale
	Săruri ale unor metale grele azotat de argint (1%) mercurocrom (1-2%)	Antiseptic pe mucoasa conjunctivală la nou-născut Antiseptic pentru plăgi
	Agenți alchilanți glutaraldehida (2%)	Dezinfectant pentru endoscoape, laparoscopia, cistoscoape, etc.
	Derivați fenolici crezoli, lizoli (1-5%) hexaclorofen (3%)	Antiseptice în concentrații joase, dezinfectante în concentrații mai mari. Antiseptic pentru piele și mucoase
Lezează membranele celulare	Biguanide clorhexidina (0.2-1%)	Antiseptic pentru mucoase și piele
	Detergenți cationici compuși de amoniu cuaternari (1%)	Antiseptic pentru plăgi și mucoase
	Coloranți derivați de anilină: cristal violet 1% albastru de metil 1%	Antiseptice folosite în piodermite
Alterează acizii nucleici	derivați de acridină: rivanol (1‰)	Antiseptic pentru plăgi

momentul folosirii sau acestea se reînnoiesc periodic; (b) în alegerea concentrațiilor se va ține seama de condiția „curat” sau „murdar” (prezența de substanțe organice: sânge, excrete, culturi microbiene) a obiectelor supuse acțiunii dezinfectantelor; (c) pentru decontaminarea

mâinilor, întotdeauna soluția antiseptică se toarnă pe mâini (introducerea acestora în soluție conduce la inactivarea rapidă a efectului antimicrobian).

Aprecierea acțiunii antimicrobiene a unui agent chimic. Clasic, o realizăm prin raportarea acțiunii acestuia față de fenol (folosit pentru prima dată în antisepsie de către J. Lister) asupra unei suspensii standard de *Salmonella Typhi* și *Staphylococcus aureus*, după 10 minute de expunere. Spre exemplu, dacă agentul testat omoară populația standard la diluția 1/250, iar fenolul are același efect la diluția 1/60, coeficientul fenolic este de 4,2. Acest test nu reflectă întotdeauna acțiunea *in situ* întrucât nu ține seama de prezența substanțelor organice, a pH-ului, temperaturii etc.; în prezent, o varietate de alte metode au fost propuse pentru aprecierea mai corectă a activității antimicrobiene a unui nou compus chimic.

7.2.3.2. Agenți sterilizanți. Chimiosterilizarea gazoasă poate fi utilizată pentru obiecte sau materiale chirurgicale din cauciuc sau plastic, afectate de căldură; recurge la agenți chimici care acționează în incinte etanșe asemănătoare autoclavelor, având o bună penetrabilitate. Asemenea substanță este *oxidul de etilen*, un agent alchilant în stare gazoasă, neinflamabil numai în amestec cu CO₂ sau N₂; se folosește în condiții stricte de concentrație, temperatură, umiditate și timp de acțiune pentru realizarea unei acțiuni maxime microbicide.

Controlul eficienței sterilizării prin gaze se realizează cu spori de *B. subtilis* var. *niger*.

7.2.3.3. Prezervanți. Sunt substanțe chimice cu efect -static sau -cid asupra microorganismelor patogene și a celor responsabile de alterarea unor produse, netoxice în concentrațiile utilizate, folosite în conservarea unor medicamente, seruri terapeutice sau de diagnostic, vaccinuri sau antigene microbiene, ca și a unor alimente. Dintre cele mai utilizate: acid benzoic și benzoat de Na, acid salicilic, acid lactic, sorbat de K, propionat de Ca, mertiolat de Na, nitrați și nitriți de Na etc.

7.2.4. Alegerea metodelor de sterilizare sau dezinfecție

Selecționarea uneia din aceste două posibilități în practica medicală este în raport cu riscul pe care îl prezintă contaminarea într-o condiție concretă. Au fost descrise 3 condiții diferite: critice, semicritice și necritice.

Condițiile critice sunt cu înalt risc de contaminare, **sterilizarea fiind obligatorie** pentru:

- materiale sau instrumentar ce realizează contacte directe cu țesuturile sau pătrund în sistemul vascular (instrumentar chirurgical, materiale de sutură, seringi, catetere, soluții medicamentoase cu administrare s.c., i.m. sau i.v. etc.);

- recipiente, medii de cultură și instrumentar folosite în realizarea examenelor microbiologice;

- bioreziduuri rezultate din activitatea laboratoarelor de microbiologie.

Condițiile semicritice, cu risc intermediar de contaminare, necesită utilizarea unor **dezinfectante cu nivel înalt** pentru:

- instrumentar care vine în contact cu mucoasele (endoscoape, sonde, apăsătoare de limbă, valve vaginale, termometre etc.); dezinfecția este eficientă dacă, după folosire, se curăță suprafața acestor obiecte de resturile de materie organică;

- sticlărie și alte materiale din laboratoarele de biochimie sau hematologie care au venit în contact cu sânge sau alte produse biologice.

Condițiile necritice, cu risc minim de contaminare, solicită o **dezinfecție de nivel mediu sau scăzut** pentru:

- obiecte sau instrumente care realizează contact numai cu tegumentul intact;

- veselă, lenjerie;
- mâinile personalului medical.

Tehnica lucrului aseptice, larg utilizată în metodologia diagnosticului microbiologic și în practica medico-chirurgicală, va fi însușită de către studenți în ședințele de lucrări practice și în cursul stagiilor clinice.

7.3. AGENȚI TERAPEUTICI ANTIMICROBIENI FOLOSIȚI ÎN CONTROLUL INFECȚIEI

GABRIELA COMAN

„Și totuși, spori nu s-au ridicat în picioare pe geloză ca să-mi spună: «Știți noi producem o substanță antibiotică» ...

Nu nesocotiți niciodată aparența sau un fapt deosebit; de obicei este vorba de un fals semnal, dar s-ar putea să fie și un adevăr important.”

SIR ALEXANDER FLEMING

Victor Babeș scria că: „...a studiat experimental modul în care bacterii dintr-o specie cunoscută produc substanțe chimice sau modifică mediul în așa fel, încât vatămă bacteriile de altă specie. Dacă s-ar da curs studiului asupra antagonismului dintre bacterii, am ajunge ca o boală cauzată de către o bacterie să fie tratată de către altă bacterie – poate conduce la idei noi în terapeutică”.

SIR HOWARD WALTER FLOREY, în „*The Use of Microorganisms for Therapeutic Purposes*”

7.3.1. Generalități

În terapia infecțiilor folosim compuși obținuți prin sinteză chimică (chimioterapice) sau produși de biosinteză microbiană (antibiotice), cu efect -cid sau -static, a căror caracteristică majoră este **toxicitatea selectivă**: maximă față de microorganisme, minimă față de celulele organismului tratat. Alte calități pe care trebuie să le îndeplinească, la modul ideal, un agent terapeutic: • să posede un spectru de activitate antimicrobiană suficient de larg; • să nu favorizeze dezvoltarea rezistenței secundare; • să realizeze concentrații active în țesuturi și umori, inclusiv în LCR; • să persiste în organism în formă activă un interval suficient de timp; • să nu determine fenomene de sensibilizare; • să nu interacționeze cu alte medicamente administrate concomitent; • să fie comercializat la un preț scăzut.

Criterii de clasificare. În arsenalul terapeutic actual al infecțiilor bacteriene, micotice, parazitare sau virale figurează peste 250 produse, care pot fi clasificate în raport cu mai multe criterii:

(i) **După modul de obținere**, diferențierea în chimioterapice și antibiotice a pierdut din importanță întrucât s-a reușit lărgirea spectrului de activitate antimicrobiană sau/și ameliorarea proprietăților farmacocinetice ale acestora (compuși de semisinteză) prin modificări chimice în formula unor produși de biosinteză; pe de altă parte, antibiotice cu formula chimică mai simplă, precum cloramfenicolul sau ciclosporina sunt obținute mai economic, prin sinteză chimică.

În prezent, denumirea de antibiotice este acceptată pentru toți agenții antimicrobieni utilizați în terapie, indiferent de modul lor de obținere; termenul chimioterapice nu este recomandat întrucât poate determina confuzii, desemnând uzual produse administrate în tratamentul unor boli neoplazice.

(ii) **După categoria de microorganisme** asupra cărora acționează, clasificăm antibioticele în **antibacteriene, antivirale, antifungice, antiparazitare**. Conținutul tematic al disciplinei

noastre ne determină ca în continuare să ne raportăm numai la primele două grupe.

(iii) **După efectul lor asupra microorganismelor**, antibioticele **-cide** omoară microorganismele, cele cu efect **-static** le inhibă multiplicarea, cooperând în efectul final **-cid** cu mecanismele de apărare antiinfecțioasă ale gazdei. În acest context, la imunodepresați vom administra în exclusivitate antibiotice cu efect **-cid**. Încadrarea strictă a unor antibiotice antibacteriene în una din cele două categorii poate fi dificilă. Așa cloramfenicolul, cu acțiune bacteriostatică față de majoritatea bacteriilor, exercită efect **-cid** față de *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* și *Streptococcus pneumoniae*; penicilinele, antibiotice recunoscut bactericide, manifestă numai un efect **-static** asupra enterococilor. Importanța practică prezintă clasificarea antibioticelor bactericide în funcție de condițiile în care își exercită efectul lor optim:

- **bactericide dependente de concentrație** (aminoglicozide, fluorochinolone, carbapeneme), la care activitatea antibacteriană este în raport cu nivelul antibioticului peste valoarea CMI; efectul bactericid este rapid. Pentru acestea, numărul de doze în 24 ore este redus, iar când doza zilnică este micșorată se recurge la creșterea intervalului de timp dintre administrări.

- **bactericide dependente de timp** (peniciline, cefalosporine, glicopeptide), pentru care are importanță perioada de timp în care antibioticul realizează concentrații serice > CMI; efectul bactericid este lent. Pentru majoritatea antibioticelor de acest tip doza zilnică este fracționată în mai multe administrări.

(iv) **După mecanismul de acțiune, antibioticele antibacteriene** pot interveni prin:

1. inhibarea sintezei peretelui celular;
2. afectarea funcțiilor membranei citoplasmatică;
3. perturbarea sintezei proteinelor celulare;
4. blocarea sintezei acizilor nucleici.

Agenții terapeutici **antivirali** pot afecta:

1. atașarea sau penetrarea virusului în celula gazdă;
2. decapsidarea;
3. sinteza acidului nucleic viral (ARN sau ADN);
4. sinteza proteinelor virale;
5. asamblarea virionului.

(v) **După spectrul de activitate**, antibioticele antibacteriene pot fi diferențiate în două grupe majore:

- cu spectru îngust, active preferențial față de anumite bacterii gram-pozitive, gram-negative sau acido-alcool-rezistente;

- cu spectru largit, active față de bacterii gram-pozitive și gram-negative, unele inclusiv față de bacterii particulare (*Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Rickettsia*).

(vi) **După structura chimică**, de interes mai ales pentru cei preocupați în obținerea și caracterizarea unor noi compuși utilizați în terapie.

(vii) Combinarea a trei criterii, **mechanism de acțiune, structura chimică de bază și spectrul antibacterian** (specii natural sensibile), reprezintă o clasificare cu valoare didactică și practică, pe care o vom adopta pentru prezentarea în continuare a agenților terapeutici antibacterieni și antivirali.

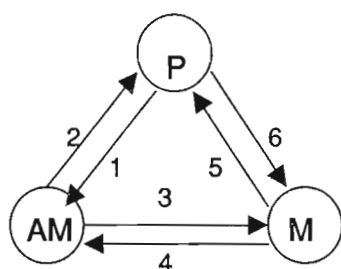
7.3.2. Antibiotice antibacteriene

7.3.2.1. Relația bacterie-antibiotic. Poate fi caracterizată în afara macroorganismului și în cadrul relației complexe pacient (P), microorganism (M) și agentul terapeutic antimicrobian (AM).

In vitro, această relație este definită prin:

- **concentrația minimă inhibitorie (CMI)** ce reprezintă cantitatea minimă de antibiotic care inhibă cultivarea unei tulpini bacteriene;

- **concentrația minimă bactericidă (CMB)** definită prin cantitatea cea mai mică de



- 1 – farmacocinetică
- 2 – fenomene adverse
- 3 – activitate antimicrobiană
- 4 – rezistența față de antibiotic
- 5 – infecție, distrucții tisulare
- 6 – apărare antiinfecțioasă

antibiotic care omoară 99,9% din bacteriile unei tulpini testate.

Antibioticele bactericide au raportul CMB/CMI < 4 , cele bacteriostatice au raportul CMB/CMI ≥ 4 . Sunt antibiotice recunoscute bactericide (β -lactamice) care au față de unele tulpini aparținând unor specii *Staphylococcus* sau *Streptococcus* un efect bacteriostatic, raportul CMB/CMI fiind ≥ 32 . Acest fenomen numit **toleranță** reprezintă o formă particulară de rezistență, cu impact terapeutic în infecții severe (endocardite, meningite, septicemii).

Relațiile *in vivo* stabilite în cursul terapiei sunt evidente în două situații opuse: succes sau eșec terapeutic. În cadrul acestor relații bacteriile pot fi diferențiate în 3 categorii:

- **sensibile (S)** la un anumit antibiotic care, folosit în doze uzuale, va asigura cu mare probabilitate vindecarea infecției;
- **rezistente (R)** la un anumit antibiotic pentru care există o probabilitate puternică de eșec terapeutic;
- **intermediare (I)** pentru care efectul terapeutic se poate obține numai în anumite condiții: (a) supradoze de antibiotic, (b) administrare locală, (c) doze uzuale în cazul antibioticelor care realizează concentrații urinare mai mari decât cele serice.

Relația CMI cu încadrarea tulpinilor bacteriene în una din cele trei categorii (S, R, I):

- tulpinile **sensibile (S)** sunt cele care au valoare CMI $<$ decât nivelul mediu al antibioticului din focarul de infecție;
- tulpinile **rezistente (R)** au CMI $>$ decât nivelul mediu al antibioticului în focarul de infecție;
- tulpini **intermediare (I)** au CMI apropiată de nivelul mediu al antibioticului din focarul de infecție.

Valorile CMI care definesc aceste 3 categorii de tulpini poartă numele de **concentrații critice** sau puncte de ruptură. Ele sunt stabilite de către grupe de experți, la nivel național sau internațional, fiind revizuite periodic în raport cu eventuale discordanțe între rezultatele testărilor *in vitro* și răspunsul terapeutic, care pot să apară mai ales în cazul speciilor care își modifică gradul de sensibilitate la antibiotice.

De regulă, pentru un antibiotic există două puncte de ruptură cu valori diferite în raport cu specia bacteriană sau grupe de specii; uneori există diferențe în funcție de localizarea infecției. De exemplu, după recomandările NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) din anul 2002 concentrațiile critice ale penicilinei pentru *S. pneumoniae* sunt 0,06 $\mu\text{g/mL}$ și 2 $\mu\text{g/mL}$; tulpinile S au CMI $\leq 0,06 \mu\text{g/mL}$, cele R au CMI $\geq 2 \mu\text{g/mL}$, iar cele cu CMI $> 0,06 \mu\text{g/mL}$ și $< 2 \mu\text{g/mL}$ (zonă tampon) sunt incluse în categoria I.

7.3.2.2. Antibiotice antibacteriene folosite în terapie; clasificare (fig.7-5)

A. Inhibitori ai sintezei peretelui celular

(I) Antibiotice care inhibă sinteza peptidoglicanului intervin în diferite etape: intracitoplasmatic, unde are loc sinteza unor precursori cu greutate moleculară mică, transport transmembranar al precursorilor sau sinteza noilor molecule de peptidoglican care sunt apoi atașate la peptidoglicanul preexistent.

Antibiotice β -lactamice (cele mai numeroase)

- structură chimică: conțin în formulă inelul activ beta-lactamic;
- mecanism de acțiune: se fixează pe enzime din membrana citoplasmatică (în special transpeptidaze), numite **proteine de legare a penicilinelor (PLP)** care intervin în faza finală a sintezei peptidoglicanului; bactericide în perioada de multiplicare exponențială, dependente de timp; fac excepție carbapenemele, care sunt bactericide dependente de concentrație, inclusiv în faza staționară;
- proprietăți farmacocinetice: după administrare orală, i.m. sau i.v. realizează concentrații active în țesuturi, unele și în LCR, cu rare excepții fiind eliminate preponderent pe cale renală;
- fenomene adverse: toxicitate foarte redusă; mai ales penicilinele pot determina fenomene de sensibilizare, inclusiv șoc anafilactic; ca și în cazul altor antibiotice, există riscul apariției colitei postantibiotice cu *Clostridium difficile*.

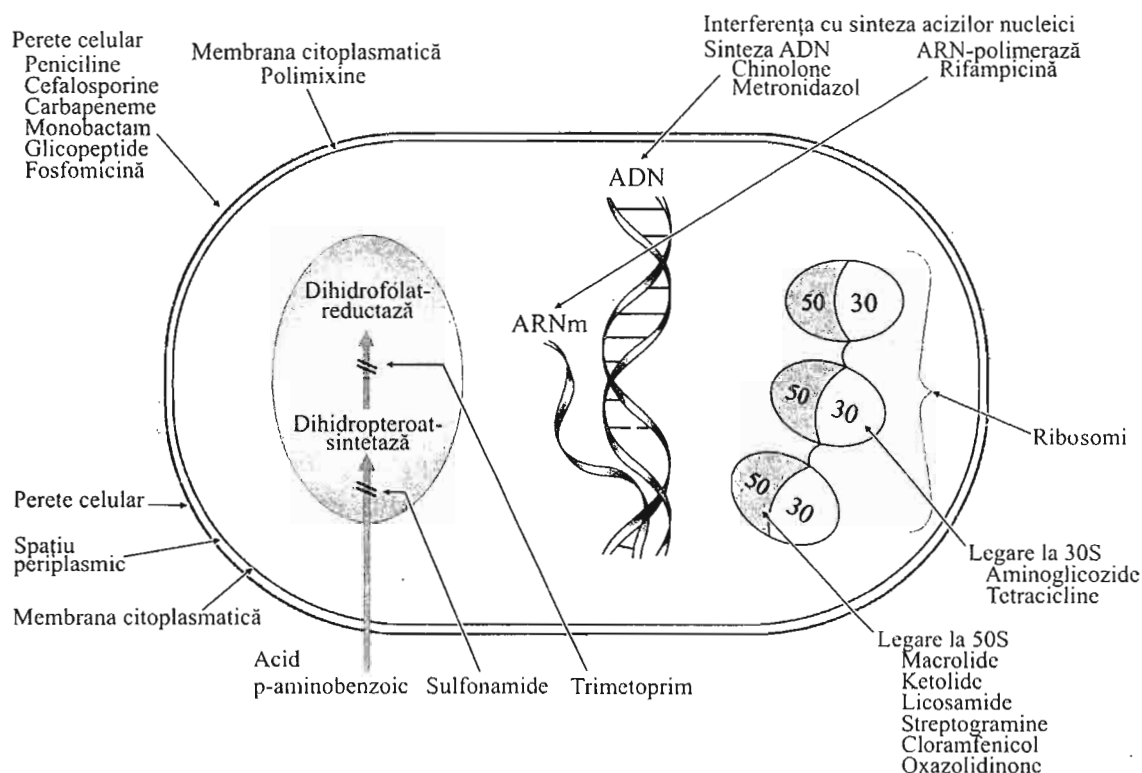


Fig. 7-5. Ținte de atac ale principalelor antibiotice antibacteriene (după Mahon C. R., Manuselis G.)

(1) Peniciline

–de biosinteză (produse de *Penicillium notatum*, *P. chrysogenum*)

• reprezentanți: **benzil-penicilină**, **fenoximetil-penicilină** (rezistentă la aciditatea gastrică, singura din acest grup cu administrare orală), **procain-penicilină**, **benzatin-penicilină** (peniciline cu resorbție lentă, respectiv foarte lentă)

• spectru antibacterian: coci și bacili gram-pozitivi, coci gram-negativi, bacterii anaerobe, cu excepția *Bacteroides fragilis*, spirochete.

–de semisinteză

(a) peniciline rezistente la penicilinaza stafilococică (grup M)

• reprezentanți: **meticilină**, **nafcilină**, **oxacilină**, **cloxacilină**, **dicloxacilină**;

- spectru antibacterian: active îndeosebi asupra stafilococilor producători de penicilinază.

(b) aminopeniciline (grup A)

- reprezentanți: **ampicilină, amoxicilină, bacampicilină**;
- spectru antibacterian: asemănător cu penicilinele de biosinteză, fiind active în plus față de bacili gram-negativi din genurile *Haemophilus*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus* (numai specia *P. mirabilis*).

(c) peniciline cu spectru lărgit

- reprezentanți: carboxipeniciline – **carbenicilină, ticarcilină**
ureidopeniciline – **azlocilină, mezlocilină, piperacilină**
- spectru antibacterian: asemănător cu al aminopenicilinelor, fiind în plus active față de specii *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* indologeni, *Pseudomonas*.

(d) peniciline asociate cu inhibitori de β -lactamaze (care restaurează activitatea antibioticelor inactivate de aceste enzime)

- reprezentanți: **ampicilină + sulbactam, amoxicilină + acid clavulanic, ticarcilină + acid clavulanic, piperacilină + tazobactam**
- spectru antibacterian: active față de specii *Staphylococcus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*, *Bacteroides fragilis*.

(2) Cefalosporine (derivați semisintetici ai cefalosporinei C produsă de *Cephalosporium acremonium*)

generația 1

- reprezentanți: parenterale: **cefalotină, cefapirină, cefazolină**; orale: **cefalexină, cefradin, cefadroxil**;
- spectru antibacterian: asemănător aminopenicilinelor, cu deosebirea că sunt active față de stafilococi producători de penicilinază și față de specii *Klebsiella*, dar sunt lipsite de activitate față de enterococi, *Haemophilus*, *Listeria* și anaerobi.

generația 2

cefalosporine propriu-zise

- reprezentanți: parenterale: **cefuroximă, cefamandol, ceforanid, cefunocid**; orale: **cefactor, cefuroximă-axetil, cefprozil**;
- spectru antibacterian: asemănător cu al cefalosporinelor din generația 1, dar sunt în plus active față de specii *Haemophilus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* indologeni.

cefamicine

- reprezentanți: numai parenterale: **cefoxitină, cefotetan, cefmetazol**;
- spectru antibacterian: în plus față de precedentele, sunt active față de anaerobi, remarcându-se printr-o rezistență importantă față de β -lactamaze.

generația 3

- reprezentanți: parenterale: **cefotaximă, ceftizoximă, ceftriaxonă, ceftazidimă, cefoperazonă**; orale: **cefpodoximă-axetil, cefiximă, ceftibutenă**;
- spectru antibacterian: asemănător cu generația 2, fiind mai active pe enterobacterii (stabilitate superioară față de β -lactamaze); ceftazidima și cefoperazona au acțiune în plus față de *Pseudomonas aeruginosa*.

generația 4

- reprezentanți: **cefepimă, cefpiromă**;
- spectru antibacterian: asemănător cu generația 3, dar active în egală măsură asupra bacteriilor gram-pozitive și gram-negative, inclusiv asupra *P. aeruginosa*.

(3) Carbapeneme (derivați semisintetici de tienamicină, produs de *Streptomyces cattleya*)

- reprezentanți: **imipenem + cilastatin, meropenem, ertapenem**;
- spectru antibacterian: deosebit de larg, active față de bacterii gram-pozitive și gram-negative, aerobe și anaerobe, fiind mai rezistente față de acțiunea β -lactamazelor; ca tot grupul antibioticelor β -lactamice sunt inactice față de *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Rickettsia*.

(4) Monobactam (derivat semisintetic al unui antibiotic monociclic produs de *Chromobacterium violaceum*)

- reprezentant: **aztreonam**
- spectru antibacterian: activ numai pe bacili gram-negativi din familia *Enterobacteriaceae* și genul *Pseudomonas*.

Glicopeptide

- reprezentanți: **vancomicină, teicoplanină**;
- structura chimică: complex solubil glicopeptidic cu greutate moleculară mare (obținut din cultura de *Streptomyces orientalis*);
- mecanism de acțiune: se leagă de porțiunea terminală a lanțului pentapeptidic (D-alanină-D-alanină), blocând încorporarea de noi subunități în macromolecula de peptidoglican; efect bactericid în faza exponențială de creștere, dependent de timp; bacteriostatic față de enterococi.
- spectru de activitate: bacterii gram-pozitive, aerobe și anaerobe, fiind administrate în infecții cu tulpini *Staphylococcus* metilino-rezistente sau tulpini *Streptococcus pneumoniae* și *Enterococcus* multirezistente la antibiotice; excepție fac speciile *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, natural rezistente;
- proprietăți farmacocinetice: nu se absorb la nivelul mucoasei digestive; administrarea parenterală asigură o bună distribuție în țesuturi; eliminare predominant pe cale renală;
- fenomene adverse: sunt oto- și nefrotoxice.

Fosfomicina

- structura chimică: derivat de acid fosforic;
- mecanism de acțiune: inactivează piruvil-transferaza care intervine într-o fază precoce a sintezei peptidoglicanului; efect bactericid;
- spectru de activitate: bacterii aerobe gram-pozitive și gram-negative, inclusiv *P. aeruginosa*, stafilococi metilino-rezistenți, enterococi;
- proprietăți farmacocinetice: administrare orală, largă distribuție în țesuturi și LCR, eliminare prin urină și fecale;
- fenomene adverse: intoleranță digestivă (grețuri, diaree).

Alte antibiotice care inhibă sinteza peptidoglicanului au o utilizare limitată în terapie din cauza efectelor secundare sistemice: **bacitracina, ciclosporina**.

(II) Antibiotice care inhibă sinteza acizilor micolici sau arabinogalactanului din structura peretelui celular la specii *Mycobacterium*

Izoniazida

- structura chimică: hidrazida acidului izonicotinic;
- mecanism de acțiune: inhibă reacții enzimice ale lanțului de sinteză a acizilor micolici; efect bactericid față de bacili extra- și intracelulari;

Planşe

CAPITOLUL 4

PLANȘA 4.1

4.1 ANATOMIA FUNCȚIONALĂ A VIRUSURILOR

Adenovirusurile au simetrie icosaedrică: Electronmicrografii, colorație negativă (256.000X). **1** Două grupe de capsomere au fost înnegrite pentru a marca o hexonă și o pentonă. **2** Din pentona fiecărui vârf iradiază, măciucate fibrele pentonei. **3** Modelul virionului construit din 252 sfere echivalente capsomerelor, pentonele cu fibra lor apar în negru (după R.C. Valentine și H.G. Pereira, 1965). **4** Virusul gripal, electronmicroscopie, colorație negativă. Observați polimorfismul virionilor, anvelopa cu spiculi. În stânga jos este surprins și un virion care are anvelopa ruptă; sunt evidente spiralele derulate ale nucleocapsidei helicale. **5** Virusul vaccinie. În stânga microtubulii anvelopei, colorație negativă (228.000X). În dreapta secțiune ultrafină (220.000X), anvelopa conține miezul biconcav și doi corpi laterali.

- proprietăți farmacocinetice: administrat oral, realizează concentrații active tisulare și în LCR; eliminare renală;
- reacții adverse: hepatotoxic și neurotoxic, mai ales la vârstnici, diabetici, alcoolici.

Pirazinamida

- structura chimică: analog structural al nicotinamidei;
- mecanism de acțiune: asemănător izoniazidei; efect bactericid numai intracelular, la un pH acid, după conversia în acid pirazinoic de către o amidază bacteriană;
- spectru de activitate: acțiune preponderent față de bacilii tuberculozei, făcând parte din antibioticele antituberculoase „din prima linie”;
- proprietăți farmacocinetice: asemănătoare cu izoniazida;
- fenomene adverse: hepatotoxic.

Etambutol

- mod de obținere: prin sinteză chimică;
- mecanism de acțiune: inhibă sinteza arabinogalactanului; bacteriostatic, numai față de bacili extracelulari;
- spectru antibacterian: bacilii tuberculozei și complexul *M. avium-intracellulare*;
- proprietăți farmacocinetice: asemănătoare cu izoniazida;
- fenomene adverse: neuropatie periferică.

B. Antibiotice care alterează funcțiile membranei citoplasmatică

Polimixine

- reprezentanți: **polimixina B, polimixina E** (colistina);
- structură chimică: polipeptide bazice cu greutate moleculară mare (produse de *Bacillus polymyxa*);
- mecanism de acțiune: distorsionează structura membranelor citoplasmatică, asemănător detergenților cationici, cu perturbarea funcțiilor de barieră osmotică și transport activ; efect bactericid în toate fazele de creștere;
- spectru antibacterian: bacili și cocobacili gram-negativi aerobi-facultativ anaerobi, cu excepția speciilor din genurile *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*;
- proprietăți farmacocinetice: după administrare orală, nu se absorb la nivelul mucoasei intestinale; folosite parenteral nu difuzează bine în țesuturi, realizând concentrații active numai la nivelul aparatului urinar;
- fenomene adverse: nefro- și neurotoxice.

C. Inhibitori ai sintezei proteice

(I) Antibiotice care se fixează pe subunitatea 30S ribosomală

Aminoglicozide

- reprezentanți: compuși de biosinteză: **streptomycină, neomicină, kanamicină, tobramicină, spectinomycină** (produse de specii *Streptomyces*); **gentamicină, sisomicină** (produse de specii *Micromonospora*); produși de semisinteză: **amikacină** (derivat de kanamicină) și **netilmicină** (derivat de sisomicină);
- structura chimică: conțin în formulă două sau mai multe aminozaharuri legate prin legături glicozidice de inelul aminociclitol; face excepție spectinomicina care are numai inelul aminociclitol;
- mecanism de acțiune: transport transmembranar dependent de oxigen; fixarea ireversibilă pe subunitatea 30S determină inhibarea sintezei proteice prin citirea greșită a codului genetic; acțiune bactericidă în fază exponențială de creștere, dependentă de concentrație; spectinomicina are efect bacteriostatic;

Controlul infecției

- spectru de activitate: bacili gram-negativi facultativ anaerobi și specii *Staphylococcus*; gentamicina, tobramicina, amikacina și netilmicina sunt active față de *P. aeruginosa*; au efect sinergic cu peniciline sau glicopetide față de *Enterococcus*; streptomicina este particular activă față de *Mycobacterium*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*; spectinomicina poate fi folosită în exclusivitate în infecțiile gonococice cu tulpini producătoare de penicilinază;

- proprietăți farmacocinetice: nu se absorb pe cale digestivă; după administrare i.m. sau i.v. realizează concentrații active în țesuturi, dar nu în LCR; eliminare renală;

- fenomene adverse: ototoxice, mai ales streptomicina, și nefrotoxice, mai ales gentamicina și tobramicina.

Tetraciclina

- reprezentanți: produși de biosinteză: **tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina** (specii *Streptomyces*); produși de semisinteză: **rolitetraciclina, doxiciclina, minociclina**;

- structura chimică: includ în formulă 4 inele benzen;

- mecanism de acțiune: blochează legarea ARNt de complexul ARNm-ribosomi; acțiune bacteriostatică;

- spectru de activitate: antibiotice cu spectru larg, active pe bacterii gram-pozitive și gram-negative, aerobe (excepție *P. aeruginosa*) și anaerobe, spirochete, micoplasme, chlamidii, rickettsii;

- proprietăți farmacocinetice: administrate oral, realizează concentrații active tisulare dar nu în LCR; doxiciclina și minociclina au o mai bună adsorbție digestivă; eliminare biliară și urinară;

- fenomene adverse: administrate la copii sub vârsta de 8 ani determină colorația brună a smalțului dentar și afectează procesul de creștere a oaselor lungi; contraindicate la gravide.

(II) Antibiotice care se fixează pe subunitatea 50S ribosomală

Fenicoli

- reprezentanți: **cloramfenicol** (obținut în prezent prin sinteză chimică) și **tiamfenicol** (derivat de cloramfenicol), mai puțin toxic;

- formula chimică: conține în formulă nucleul nitrobenzen, responsabil de efecte toxice;

- mecanism de acțiune: se fixează la peptidil-transferaza prezentă pe subunitatea 50S blocând atașarea unor noi aminoacizi la ARNt; efect bacteriostatic față de majoritatea bacteriilor, bactericid față de *H. influenzae*, *N. meningitidis* și *S. pneumoniae*;

- spectru antibacterian asemănător cu al tetraciclinelor; excelentă activitate față de bacterii intracelulare și față de anaerobi;

- proprietăți farmacocinetice: după administrare orală sau parenterală realizează concentrații active tisulare și în LCR; este conjugat în ficat, rezultând un compus inactiv față de bacterii, eliminat pe cale renală;

- fenomene adverse: poate determina fenomene toxice medulare reversibile, dependente de doză; aplazie medulară fatală, rar întâlnită (1/40.000 cazuri); sindromul cenușiu la nou născut și prematuri prin acumulare de cloramfenicol neconjugat.

Macrolide

- structură chimică: conțin inelul lactonic macrociclic, cu 14, 15 sau 16 atomi, la care sunt atașate zaharuri prin legături glicozidice;

- reprezentanți: antibiotice de biosinteză având inelul lactonic cu 14 atomi: **eritromicina** (produsă de *Streptomyces erythreus*) și derivați semisintetici: **roxitromicina, claritromicina, diritromicina**; derivați semisintetici cu 15 atomi: **azitromicina** (azalid); produși cu 16 atomi, de biosinteză: **spiramicina, josamicina** și de semisinteză: **rokitamicina**

- mecanism de acțiune: asemănător cu cloramfenicolul; efect bacteriostatic;

- spectru antibacterian: variabil active față de coci și bacili gram-pozitivi aerobi și anaerobi, *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*, *H. influenzae*, specii *Campylobacter*, *Helicobacter* (claritromicina este folosită mai ales în tratamentul

infecției cu *H. pylori* datorită stabilității acesteia la pH-ul acid gastric), *Mycoplasma* (excepție *M. hominis*), *Chlamydia*; claritromicina este activă în plus față de complexul *M. avium-intracellulare* și *M. leprae*;

- proprietăți farmacocinetice: administrate mai frecvent pe cale orală, realizează concentrații active tisulare, dar nu în LCR având o bună penetrabilitate intracelulară, remarcabilă la azalide; eritromicina este instabilă la pH acid; eliminare predominant biliară;

- fenomene adverse: intoleranță gastrică (greturi, vărsături).

Ketolide

- reprezentanți: grup nou de antibiotice în dezvoltare, în prezent cu un singur reprezentant folosit în terapie: **telitromicina**;

- structură chimică: asemănătoare cu a macrolidelor cu 14 atomi;

- mecanism de acțiune, efect antibacterian, proprietăți farmacologice: asemănătoare cu noile macrolide de semisinteză;

- spectru antibacterian: asemănător cu al claritromicinei, dar mai activ față de bacterii gram-pozitive, inclusiv *S. pneumoniae* rezistent la eritromicină.

Lincosamide

- reprezentanți: antibiotic de biosinteză – **lincomicina** (produsă de *Streptomyces lincolnensis*) și derivatul său de semisinteză – **clindamicina**, cu activitate antibacteriană superioară;

- mecanism de acțiune, efect antibacterian și proprietăți farmacocinetice asemănătoare cu macrolidele, deși au o structură chimică diferită;

- spectru antibacterian: în special active față de bacterii gram-pozitive (cu excepția enterococilor), remarcabilă fiind acțiunea pe *S. aureus* (folosit în osteomielite, datorită penetrabilității superioare în os) și față de bacterii anaerobe, inclusiv *B. fragilis*;

- reacții adverse: alergice și toxice pentru măduva hematopoietică; în raport cu alte antibiotice, clindamicina este mai frecvent implicată în apariția colitei cu *C. difficile*.

***Streptogramine* (sinergistine)**

- reprezentanți: **pristinamicina, quinupristina/dalfopristina**;

- structură chimică complexă, fiind alcătuite din 2 constituenți, un polipeptid și o lactonă macrociclică;

- efect antibacterian: bactericid (fiecare din cele două componente are un efect bacteriostatic);

- mecanism de acțiune, proprietăți farmacocinetice, fenomene adverse: asemănătoare macrolidelor;

- spectru antibacterian: asemănător cu macrolidele, în plus active față de *S. pneumoniae* independent de rezistența la β -lactamice sau macrolide, față de *Enterococcus faecium* rezistent la vancomicină și față de *S. aureus* metilino-rezistent (efect bacteriostatic).

Oxazolidinone

- clasă nouă de antibiotice în dezvoltare, cu o structură chimică distinctă față de alți agenți antibacterieni; **linezolid**, singurul utilizat în prezent în clinică;

- mecanism de acțiune: inhibă sinteza proteică prin legare de subunitatea 50S ribosomală; efect bacteriostatic;

- spectru de activitate: bacterii gram-pozitive aerobe și anaerobe, indiferent de rezistența față de alte clase de antibiotice (stafilococi metilino-rezistenți, *S. pneumoniae* și enterococi multirezistenți la antibiotice, *Corynebacterium jeikeium* etc);

Controlul infecției

- proprietăți farmacocinetice: administrare orală, bună distribuție în țesuturi, eliminare predominant renală; este bine tolerat.

(III) Antibiotice care inhibă sinteza proteinelor prin alte mecanisme

Acidul fusidic

- structură chimică: singurul antibiotic cu structură steroidiană;
- mecanism de acțiune: nu se leagă direct de ribosomi; inhibă sinteza proteinelor prin formarea unui complex stabil cu factorul de elongație „G”, cu efect bacteriostatic;
- spectru de activitate: general activ față de bacterii gram-pozitive aerobe și anaerobe, dar remarcabilă este activitatea antistafilococică (se administrează numai în asociație cu macrolide, glicopeptide, rifampicină sau fluorochinolone pentru prevenirea rezistenței secundare);
- proprietăți farmacocinetice: după administrare orală sau parenterală realizează concentrații active serice, penetrează bine în țesuturi, inclusiv în os, dar nu în LCR; eliminare exclusiv prin bilă;
- reacții secundare: intoleranță digestivă, icter colestatic.

Mupirocin

- antibiotic de biosinteză produs de *Pseudomonas fluorescens*;
- structură chimică: analog de izoleucină;
- mecanism de acțiune: inhibă sinteza proteică prin blocarea isoleucil-ARNt-sintetazei;
- spectru antibacterian: în special activ față de bacterii gram-pozitive;
- proprietăți farmacocinetice: nu se administrează sistemic întrucât este rapid inactivat în organism; este folosit în aplicații locale pentru sterilizarea purtătorilor nasali cu *S. aureus*, inclusiv cu tulpini meticilino-rezistente.

D. Inhibitori ai sintezei acizilor nucleici

Chinolone

- structură chimică: antibiotice de sinteză, având în formulă inelul chinolon; fluorochinolonele sunt derivați cu 1, 2 sau 3 atomi de fluor, cu spectru antibacterian și proprietăți farmacocinetice îmbunătățite;
- mecanism de acțiune: interacționează cu două enzime care intervin în replicarea ADN bacterian, ADN-giraza și topoizomeraza IV; efect bactericid dependent de concentrație;
- proprietăți farmacocinetice: majoritatea se folosesc pe cale orală; cele din generația 1 realizează concentrații active numai la nivelul aparatului urinar, fluorochinolonele sunt antibiotice sistemice, cu o bună distribuție tisulară; eliminare predominant urinară, cu excepția pefloxacinii care realizează în urină concentrații scăzute;
- fenomene adverse: intoleranță digestivă, cefalee; unele fluorochinolone (lomefloxacină, sparfloxacină) pot determina fotosensibilizare cutanată; artropatii la animale de vârstă mică, neconfirmate la om.

generația 1

- reprezentanți: **acid nalidixic, acid pipemidic, acid oxolinic, cinoxacină;**
- spectru antibacterian: bacili gram-negativi din familia *Enterobacteriaceae*; dezvoltă rapid rezistență secundară;

generația 2

- reprezentanți: **norfloxacină, ciprofloxacină, ofloxacină, pefloxacină, lomefloxacină;**
- spectru de activitate: bacili gram-negativi, inclusiv *P. aeruginosa*, coci și cocobacili gram-negativi, unele bacterii gram-pozitive (stafilococi meticilino-sensibili și streptococi β-hemolitici); activitate variabilă față de *Mycoplasma* și *Chlamydia*;

generația 3

- reprezentanți: **levofloxacină, sparfloxacină, gatifloxacină, moxifloxacină**;
- spectru antibacterian: au o activitate asemănătoare cu generația 2, în plus sunt active față de *S. pneumoniae*, indiferent de sensibilitatea la penicilină, și îmbunătățită față de *Mycoplasma* și *Chlamydia*;

generația 4

- reprezentant: **trovafloxacină**;
- spectru de activitate: identic cu generația 3, în plus activă față de bacterii anaerobe.

Rifampicina

- mod de obținere: antibiotic de semisinteză derivat din rifamicina B sintetizată de *Streptomyces mediterranei*;
- mecanism de acțiune: inhibă sinteza ARN prin legare la ARN-polimeraza ADN-dependentă; efect bactericid prin blocarea transcrierii mesajului genetic;
- spectru antibacterian: *M. tuberculosis* (face parte din antibioticele „din prima linie” folosite în terapia tuberculozei), *M. avium-intracellulare*, *M. kansasii*, *M. leprae*; în plus, este activă față de coci gram-pozitivi (inclusiv tulpini *Staphylococcus* metilino-rezistente), coci și cocobacili gram-negativi, *Legionella pneumophila*, chlamidii; folosit în monoterapie dezvoltă rezistență secundară;
- proprietăți farmacocinetice: administrare orală, penetrabilitate bună intracelulară, tisulară și în LCR, eliminare urinară și biliară;
- fenomene adverse: erupții cutanate, icter colestatic.

Din aceeași clasă face parte rifabutinul (sinonim: ansamicină), folosit de predilecție în tratamentul infecțiilor cu *M. avium-intracellulare* la bolnavii cu SIDA.

Metronidazol

- structură chimică: derivat de nitroimidazol;
- mecanism de acțiune: produși intermediari rezultați din acțiunea nitrat-reductazei bacteriene, activați în condiții anaerobe, interacționează cu ADN; efect bactericid;
- spectru antibacterian: pe lângă activitatea față de protozoare, este deosebit de activ față de bacterii anaerobe (fac excepție specii *Propionibacterium* și *Actinomyces*) și microaerofile (*Helicobacter pylori*);
- proprietăți farmacocinetice: administrat cel mai frecvent pe cale orală, realizează concentrații active în țesuturi și LCR, eliminare renală;
- fenomene adverse: în general bine tolerat; efect mutagen demonstrat numai la animale.

Sulfamide

- reprezentanți: numeroși produși; cei mai folosiți sunt: **sulfadiazina, sulfizoxazol, sulfametoxazol, sulfosalazină, ftalil-sulfatiazol, sulfone** (dapsona);
- structură chimică: derivați de sulfanilamidă, omolog structural al acidului p-aminobenzoic;
- mecanism de acțiune: efect bacteriostatic prin inhibarea sintezei acidului folic, interacționând cu dihidropteroat-sintetaza;
- spectru antibacterian: coci și bacili gram-pozitivi, coci și bacili gram-negativi cu excepția *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinomyces israelii*, dar nu și alte bacterii anaerobe, *Chlamydia trachomatis*; dapsona este activă față de *M. leprae*;
- proprietăți farmacocinetice: administrate cel mai frecvent pe cale orală, majoritatea au o bună absorbție intestinală, difuzează în țesuturi și LCR, se elimină renal; absorbție redusă pentru sulfosalazină, ftalil-sulfatiazol (sulfamide intestinale);

- fenomene secundare: cristalurie și posibil blocaj renal în cazul în care nu este asigurată o bună diureză, reacții de sensibilizare, anemie hemolitică acută la cei cu deficit în G6PD.

Cotrimoxazol

- asociație sinergică între sulfametoxazol și trimetoprim, compus care blochează același lanț metabolic, dar într-un stadiu mai tardiv decât sulfamidele, interacționând cu dihidrofolat-reductaza; efectul asociației este bactericid.

Nitrofurani

- reprezentanți: **nitrofurantoin, furazolidon**;
- structură chimică: derivați de furani;
- mecanism de acțiune: complex, perturbând sinteza acizilor nucleici și a proteinelor; efectul este -cid;
- spectru antibacterian: activi pe bacili gram-negativi din familia *Enterobacteriaceae*, cu excepția speciilor *Proteus*, coci gram-pozitivi din genurile *Staphylococcus*, *Enterococcus*;
- proprietăți farmacocinetice: după administrare orală, nitrofurantoinul se absoarbe complet la nivelul mucoasei intestinale fiind rapid eliminat prin urină; furazolidonul are o absorbție intestinală redusă, realizând concentrații active la acest nivel;
- manifestări secundare: intoleranță digestivă (grețuri, vărsături).

7.3.3. Mecanisme de rezistență a bacteriilor la antibiotice

Folosirea exhaustivă a antibioticelor la om și în sectorul veterinar a determinat dezvoltarea fenomenului de rezistență secundară la marea majoritate a speciilor bacteriene. De fiecare dată când a fost descoperit și apoi folosit în practică un nou antibiotic, după un interval de timp, mai scurt sau mai lung, au apărut tulpini rezistente.

Clasificare:

- rezistența naturală** reprezintă un caracter de specie, contribuind la definirea spectrului inițial sau natural de activitate antimicrobiană a unui agent terapeutic;

- rezistența câștigată** este un atribut de tulpină microbiană; unele tulpini aparținând unor specii natural sensibile devin rezistente în cursul folosirii agentului terapeutic, contribuind la definirea spectrului actual antibacterian.

7.3.3.1. Mecanisme de rezistență naturală

- permeabilitatea scăzută a structurilor de înveliș** ale celulei bacteriene: e.g., rezistența micobacteriilor față de o serie de antibiotice active pe bacterii neacido-alcoolo-rezistente; rezistența bacteriilor gram-negative față de glicopeptide; rezistența *P. aeruginosa* față de unele antibiotice active pe bacili gram-negativi;

- absența țintei de atac**: e.g., rezistența micoplasmelor față de antibiotice care inhibă sinteza peretelui celular; rezistența bacteriilor gram-pozitive și a anaerobilor față de aztreonam;

- inactivarea prin enzime constitutive**: e.g., rezistența *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* și *Y. enterocolitica* față de aminopeniciline.

7.3.3.2. Mecanisme de rezistență câștigată (fig.7-6)

- Modificarea permeabilității peretelui celular** care obstrucționează accesul antibioticului spre ținta de acțiune (blindajul celulei bacteriene). De exemplu, rezistența dobândită față de carbapeneme a unor tulpini de *P. aeruginosa* prin modificarea numerică sau funcțională a unor porine; la alți bacili gram-negativi, modificări la nivelul porinelor și LPS afectează pătrunderea în celula bacteriană a unor antibiotice ca tetraciclina, chinolone, aminoglicozide, sulfamide, trimetoprim etc. Intervine cel mai frecvent în asociație cu alte

mecanisme, menționate mai jos, contribuind la realizarea unor nivele mai înalte de rezistență;

– **Excluderea activă a antibioticului** din celula bacteriană este un al doilea mecanism prin care acesta nu poate să ajungă la nivelul țintei de atac, deoarece bacteria respectivă sintetizează o pompă membranară care elimină antibioticul în mediul extracelular. Mecanismul funcționează față de tetraciclina, macrolide, fluorochinolone, meropenem;

– **Modificarea biochimică a țintei de atac** conduce la scăderea gradului de afinitate față de antibiotic (camuflajul țintei): e.g., rezistența față de macrolide la unele bacterii poate fi explicată prin sinteza unei metilaze ce modifică subunitatea 50S ribosomală; modificarea subunității 30S reprezintă unul din mecanismele de rezistență față de aminoglicozide; sinteza unei dihidropteroat-sintetaze sau a unei dihidrofolat-reductaze modificate determină rezistența față de sulfamide, respectiv trimetoprim; sinteza unor PLP modificate de către tulpini *S. pneumoniae*, stafilococi diminuează afinitatea acestora pentru β -lactamine; rezistența față de rifampicină se datorează modificării ARN-polimerazei, iar pentru fluorochinolone a ADN-girazei A și topoizomerazei IV;

– **Substituirea țintei de atac** cu o altă moleculă nevulnerabilă, printr-o deviație metabolică (eschivare metabolică): e.g., tulpinile *Enterococcus* rezistente la vancomicină produc o D-alanin-D-lactat-sintetază care intervine în sinteza unui precursor pentapeptidic cu o semnificativă scădere a afinității față de antibiotic;

– **Inactivarea enzimatică a antibioticului** intervine în rezistența unor bacterii față de aminoglicozide prin **acetil-transferaze**, **adenil-transferaze** sau **fosforilaze**, a cloramfenicolului prin **cloramfenicol-acetil-transferază**, a antibioticelor β -lactamice prin **β -lactamaze**. β -lactamazele desfac inelul β -lactam deosebit de eficient (pot hidroliza mai multe mii de molecule de substrat/secundă). La bacteriile gram-pozitive sunt eliminate în mediul extracelular, iar la cele gram-negative sunt reținute în spațiul periplasmic. Sinteza lor poate fi constitutivă sau inductibilă, în ultimul caz fiind stimulată de prezența unor antibiotice β -lactamice (e.g., penicilinaza stafilococică, cefalosporinazele cromosomale la bacilii gram-negativi). Numărul acestor enzime depășește 100, dar mai puține sunt prezente la tulpini de interes medical; ele pot fi diferențiate în raport cu greutatea moleculară (mai puțin specifică), punct izoelectric (cu mare specificitate), natura substratului asupra căruia acționează, inhibarea activității prin diferite molecule (acid clavulanic, cloxacilină, EDTA), criterii care stau la baza diferitelor clasificări din literatură.

Substratul genetic al fenomenului de rezistență câștigată.

Rezistența dobândită apare la tulpini supuse unor modificări genetice. Genele de rezistență provin fie din gene indigene consecutiv fenomenului de mutație, fie au o origine exogenă, consecutiv transferului de la alte tulpini rezistente prin transformare, transducție sau conjugare (☞ Subcapitolul 5.1.3.). Aceste mecanisme funcționează în orice mediu de viață, dar mai ales la nivelul tubului digestiv al omului sau animalelor, unde numărul imens de bacterii din flora intestinală reprezintă un sistem privilegiat de schimb al genelor de rezistență.

7.3.4. Criterii în inițierea și conducerea antibioterapiei

Antibioticele reprezintă agenți terapeutici folosiți în toate specialitățile medicale sau chirurgicale, fiind imperios necesară cunoașterea și respectarea regulilor de bază în utilizarea lor rațională, evitându-se astfel greșeli, uneori majore, întâlnite în practică. Prezentăm mai jos, etapizat, într-o succesiune logică, aceste raționamente.

7.3.4.1. Oportunitatea tratamentului antibacterian. Instituirea unui tratament cu antibiotice necesită **argumente clinice și de laborator** în susținerea acestei decizii.

Boli ca pneumonii lobare, infecții urinare, meningite purulente, endocardite acute sau subacute, endometrite acute *postpartum* sau *postabortum*, celulite necrozante, febră prelungită

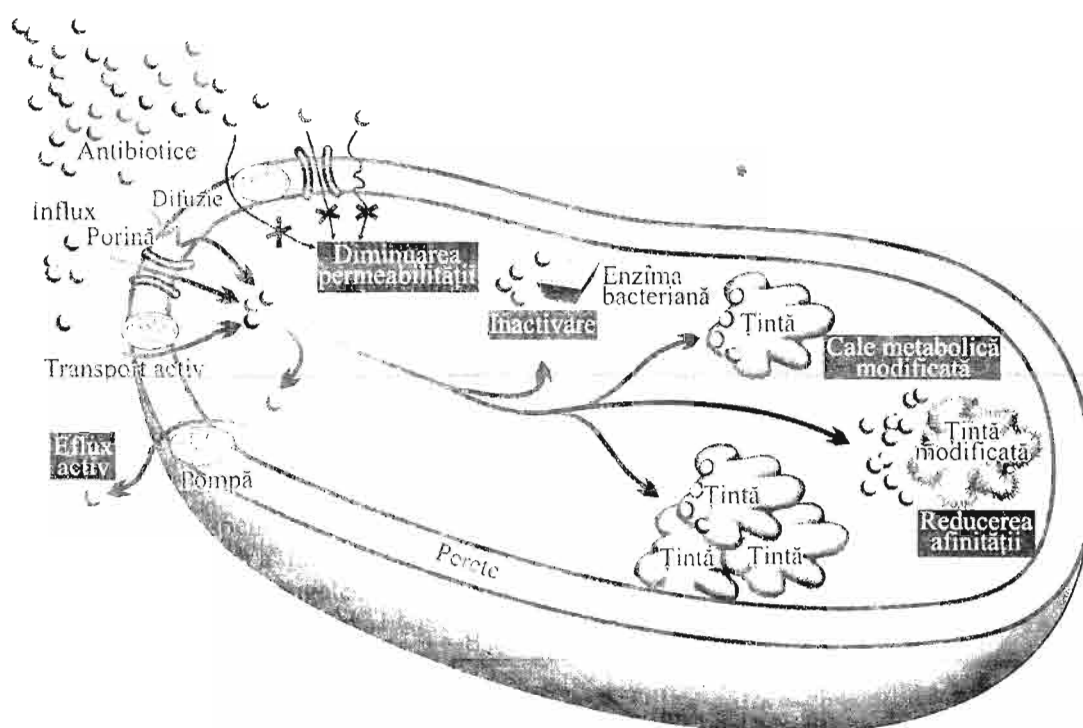


Fig. 7-6 Mecanisme fenotipice de rezistență la antibiotice (după Davies J., Mazel D.)

la cei cu valvulopatii cardiace, stări febrile la neutropenici, la cei cu proteze cardiace sau articulare, șunturi, sonde, catetere sunt de regulă sau cel mai frecvent de etiologie bacteriană (sau micotică), ceea ce justifică administrarea de antibiotice.

De multe ori însă prezența febrei reprezintă singurul criteriu pentru această opțiune, neținându-se seama de infecții virale sau cauze neinfecțioase ale acestui simptom; este recunoscut abuzul de antibiotice în tratamentul anginelor acute, care numai în aproximativ 30% din cazuri sunt de etiologie bacteriană.

Rezultatele unor investigații de laborator au o mare importanță în suspectarea unor infecții de cauză bacteriană: leucograma (> 10.000 leucocite/mm³ cu polinucleoză și $>10\%$ forme imature), CRP, procalcitonina, fibrinogen, V.S.H. (toate cu valori crescute).

7.3.4.2. Înainte de instituirea tratamentului cu antibiotice vor fi recoltate produsele patologice destinate examinărilor bacteriologice (☞ Subcapitolul 39.3.1.1).

7.3.4.3. Criterii în alegerea antibioticului adecvat. Din gama largă de antibiotice la dispoziție, îl alegem pe cel considerat mai corespunzător în raport cu următoarele criterii: sensibilitatea agentului etiologic, sediul infecției, particularități ale pacientului, criterii ecologice, criteriul economic.

A. Alegerea unui antibiotic în raport cu sensibilitatea agentului etiologic. În instituirea antibioterapiei etiotrope apar 3 situații distincte:

(i) entități clinice determinate de specii bacteriene a căror sensibilitate naturală nu s-a modificat. Tratamentul etiotrop poate fi instituit fără a recurge la examene bacteriologice (situații rare: e.g., toxiinfecția tetanică, erizipel, scarlatină);

(ii) administrarea de antibiotice reprezintă o urgență terapeutică. Se recurge la o **terapie empirică** bazată pe **evaluarea probabilă a agentului etiologic**, ținând seama de localizarea infecției, a **spectrului de sensibilitate la antibiotice**, pe baza datelor statistice și în raport cu

caracterul comunitar sau nosocomial al infecției. Metode rapide de diagnostic (microscopia directă, evidențierea antigenelor solubile) pot furniza informații deosebit de utile în orientarea etiologiei și indirect asupra antibioterapiei. Acest tratament va fi reevaluat după 2-3 zile în raport cu rezultatul antibiogramii;

(iii) starea clinică a bolnavului permite temporizarea **tratamentului țintit**, adaptat la sensibilitatea tulpinii izolate, determinată prin antibiogramă.

De cele mai multe ori spectru actual de sensibilitate al tulpinilor bacteriene circulante este imprevizibil; în aceste condiții, va fi ales un antibiotic din cele față de care tulpina izolată se demonstrează sensibilă *in vitro* prin determinări calitative sau cantitative.

Metode de testare *in vitro* a sensibilității la antibiotice a unei tulpini bacteriene.

(I) Metode calitative

Antibiograma difuzimetrică (metoda Kirby-Bauer) este cel mai frecvent folosită, permițând testarea concomitentă față de mai multe antibiotice. Este recomandată numai pentru bacteriile aerobe sau facultativ anaerobe cu creștere rapidă.

Tehnica de lucru:

- Dintr-o cultură de 18 ore pe mediu solid a tulpinii cu semnificație clinică prelevăm 4-5 colonii pentru realizarea unei suspensii în ser fiziologic la o densitate de aproximativ 10^8 UFC/mL, apreciată cu standardul 0,5 McFarland (fig.7-7 a, b, c);

- Cu această suspensie impregnăm un tampon de vată steril care va servi pentru însămânțarea în pânză a tulpinii pe suprafața mediului Mueller-Hinton repartizat cu grosime de 4 mm în plăci Petri (fig.7-7 d);

- Depunem pe suprafața însămânțată și uscată microcomprimate cu antibiotice fie manual cu ajutorul unei pense respectând ca distanța între microcomprimate să fie de 20 mm, iar între microcomprimate și marginea plăcii de 15 mm, fie cu ajutorul unui *dispenser* (fig.7-7 e);

- În alegerea antibioticelor vom ține seama de: (a) spectrul de sensibilitate naturală a unității taxonomice căreia aparține tulpina izolată sau, când testarea este realizată înainte de identificarea izolatului, alegerea o vom face în raport cu caracterele morfotinctoriale; (b) sediul infecției; (c) posibilitatea extrapolării rezultatelor pentru antibiotice din aceeași familie; (d) disponibilitatea antibioticelor în farmacii;

- Plăcile le incubăm apoi la 35°C în atmosferă aerobă sau cu CO₂ (în funcție de exigențele bacteriei testate) timp de 18-24 ore, respectând recomandările grupului de experți (e.g., pentru tulpinile *S. pneumoniae* se recomandă incubarea în atmosferă cu CO₂, iar testarea față de oxacilină a tulpinilor de *Staphylococcus* necesită incubarea la 35°C timp de 24 ore);

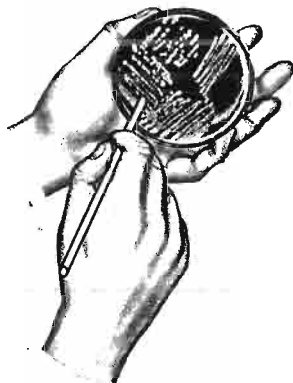
- În paralel procedăm asemănător cu o tulpină de referință care și-a păstrat sensibilitatea naturală la antibioticele testate, cu ajutorul căreia verificăm respectarea condițiilor standardizate de lucru.

În cursul incubării, antibioticul difuzează circular în mediu, realizând concentrații descrescătoare în raport cu distanța față de microcomprimat; cultura este inhibată în zona în care antibioticul realizează concentrații $\geq$ CMI.

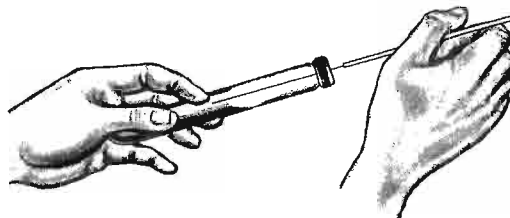
Citirea și interpretarea rezultatelor. Diametrul zonei de inhibiție, în mm, măsurat cu rigla sau cu șublerul (fig.7-7 f) îl comparăm cu cele două diametre critice stabilite de experți:

- când această valoare este $\geq$ decât diametrul critic superior (D), tulpina este considerată sensibilă (S);

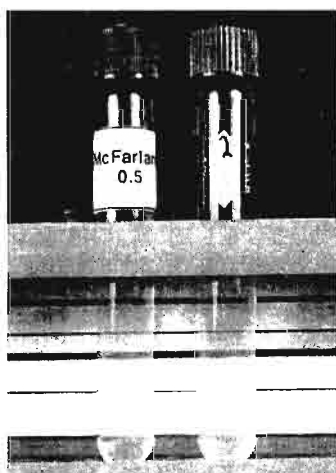
- când valoarea găsită este $\leq$ decât diametrul critic inferior (d), tulpina este considerată rezistentă (R);



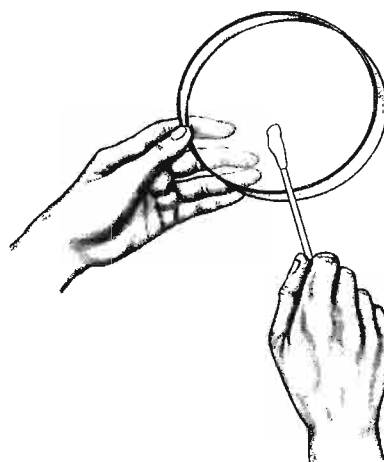
(a) Prelevăm 4-5 colonii din cultura pură a tulpinii de testat



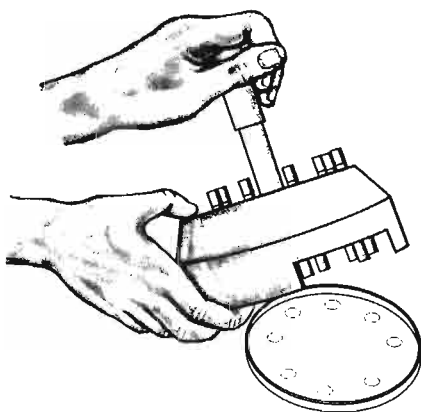
(b) Realizăm o suspensie în ser fiziologic din coloniile prelevate



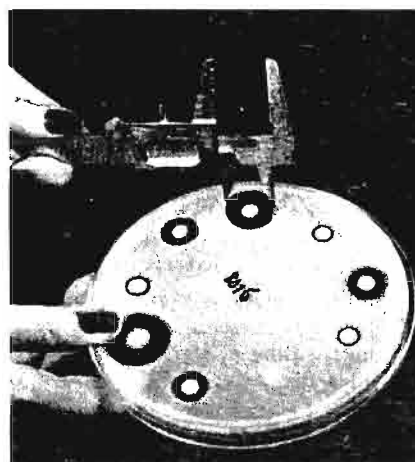
(c) Ajustăm suspensia la densitatea 10^8 UFC/ml prin comparație cu etalonul 0,5 McFarland



(d) Însămânțăm în pânză suspensia etalonată pe agar Mueller Hinton



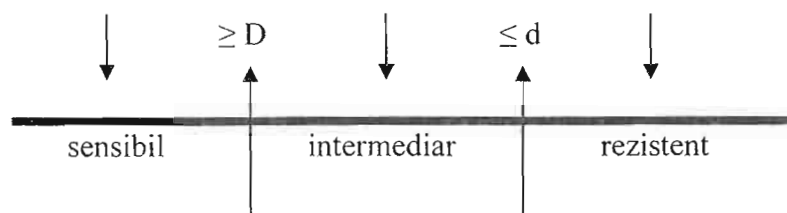
(e) Depunem microcomprimate impregnate cu antibiotice cu ajutorul unui dispenser și apoi incubăm la termostat la 35°C



(f) Măsurăm cu șublerul diametrul zonei de inhibiție și o raportăm la cele două diametre critice (D și d)

Fig. 7-7 Etapele efectuării antibiogramei difuzimetrice

—considerăm tulpina ca intermediară (I) când diametrul măsurat este situat între valorile celor două diametre critice (zona tampon pentru incertitudinile tehnice și biologice).



Rezultatele sunt comunicate numai după ce ne-am asigurat că diametrele zonelor de inhibiție ale tulpinii de referință sunt în limitele prevăzute de standard.

Așa o tulpină de *Enterobacter cloacae* izolată dintr-o infecție urinară (fig.7.8) o considerăm R la ampicilină (AM), amoxicilină+acid clavulanic (AMC), ceftazidimă (CAZ), sulfametoxazol-trimetoprim (SXT) deoarece cultura s-a dezvoltat până la marginea microcomprimatelor respective și la nitrofurantoin (FT) întrucât diametrul zonei din jurul microcomprimatului este de 12 mm față de $d = 14$ mm; o comunicăm intermediară la ciprofloxacina (CIP) deoarece diametrul măsurat de 18 mm este cuprins între valorile $d = 15$ mm și $D = 21$ mm și sensibilă la imipenem (IPM) deoarece diametrul din jurul microcomprimatului este de 26 mm, față de $D = 16$ mm. Controlul de calitate cu tulpina *E. coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922 (fig.7-9) ne dă asigurări privind valabilitatea rezultatelor obținute.

Antibiograma difuzimetrică ne permite uneori recunoașterea mecanismelor probabile de rezistență. La tulpina de *Enterobacter cloacae*, imaginea indicată cu săgeată în fig.7-8 pledează pentru o rezistență la cefalosporine prin β -lactamază cu spectru largit. Date și exemple suplimentare despre antibiograma difuzimetrică vor fi prezentate la ședința de lucrări practice cu această temă.

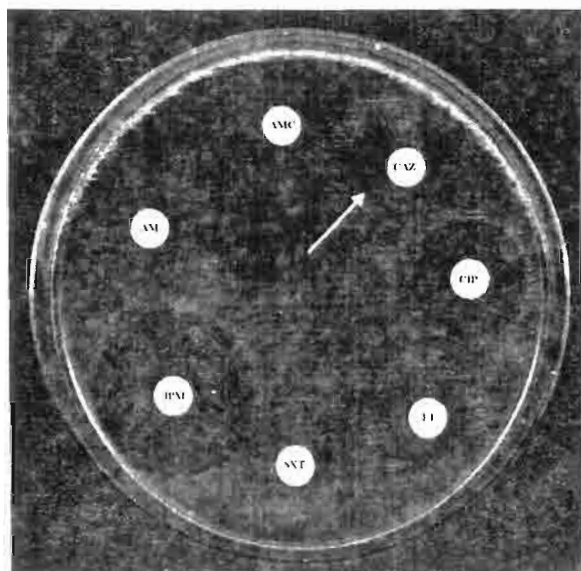


Fig.7-8 Antibiograma difuzimetrică a unei tulpini de *Enterobacter cloacae* izolată dintr-o infecție urinară (vezi textul)

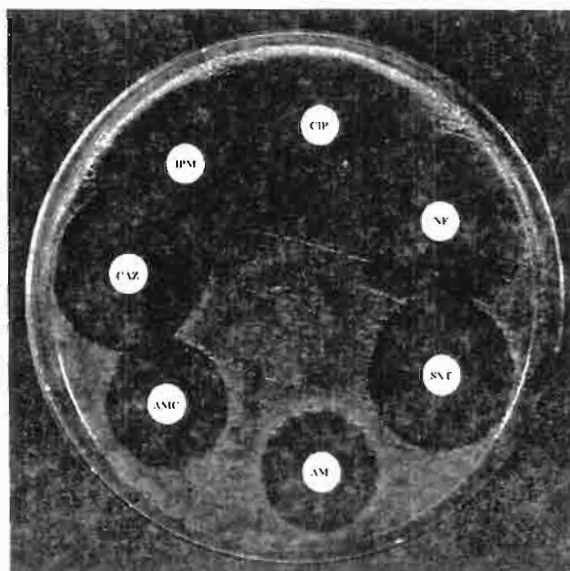


Fig.7-9 Controlul de calitate cu tulpina *E.coli* ATCC 25922 a antibiogramei difuzimetrice prezentată în fig 7-8

(II) Metode cantitative

Determinarea CMI

În anumite situații, pentru aprecierea sensibilității in vitro a unor tulpini bacteriene este indicată determinarea CMI:

- testarea sensibilității la penicilină a tulpinilor de *S. pneumoniae* izolate din sânge sau LCR;
- depistarea rezistenței *S. aureus* față de vancomicină;
- testarea sensibilității la penicilină a tulpinilor de streptococi viridans izolate din endocardite;
- infecții severe cu tulpini bacteriene care au fost comunicate ca intermediare prin antibiograma difuzimetrică față de antibiotice care reprezintă o opțiune terapeutică;
- eșec terapeutic în condițiile în care tulpina a fost considerată ca sensibilă prin antibiograma difuzimetrică;
- bacterii fastidioase.

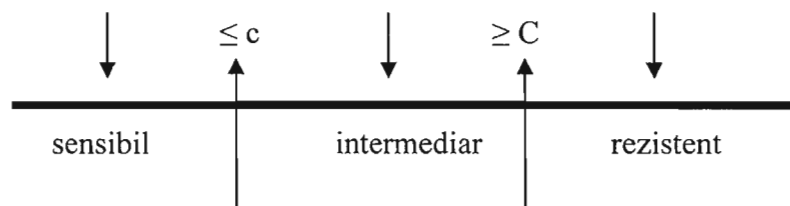
(a) Metoda diluțiilor în mediu lichid

Tehnica de lucru:

- realizăm în eprubete cu bulion Mueller-Hinton diluții succesive binare, în volum de 1 ml, din soluția stoc de antibiotic;
- adăugăm în fiecare dintre acestea câte 1 mL suspensie din bacteria testată, ajustată la o densitate de 10^5 UFC/mL;
- procedăm în mod asemănător cu o tulpină de referință pentru controlul condițiilor standard de lucru;
- realizăm un **martor pentru cultivare** însămânțând cele două tulpini în câte o eprubetă cu bulion Mueller-Hinton fără adaos de antibiotice și un **martor pentru controlul sterilității mediului**;
- agităm pentru omogenizare și incubăm tuburile la 35°C timp de 18-24 ore, în raport de antibiotic și specia bacteriană (e.g., în determinarea CMI a oxacilinei sau vancomicinei față de *S. aureus* este necesară o incubare strictă de 24 ore).

Citire și interpretare:

- CMI corespunde celei mai mici concentrații de antibiotic, în $\mu\text{g/mL}$, care determină inhibarea vizibilă a creșterii, comparativ cu martorii pentru cultivarea tulpinii și sterilitatea mediului;
- Raportăm această valoare la cele două concentrații critice, maximă (C) și minimă (c) pentru definirea tulpinii ca S, I sau R:



- Rezultatul este formulat după ce am verificat că CMI tulpinii de referință se încadrează între valorile recunoscute de standard.

Am exemplificat această metodă prin determinarea CMI a oxacilinei pentru o tulpină *S. aureus* izolată din hemocultura unui bolnav cu stare septicemică (fig.7.10); pe baza rezultatului antibiogramei difuzimetrice tulpina a fost considerată intermediară la acest antibiotic, având un diametru de 12 mm ($S \geq 13$ mm; $R \leq 10$ mm). CMI stabilită prin metoda diluțiilor în mediu lichid este de 1 $\mu\text{g/mL}$, ceea ce ne permite să considerăm tulpina sensibilă la oxacilină ($S \leq 2$ $\mu\text{g/mL}$; $R \geq 4$ $\mu\text{g/mL}$).

(b) **Metoda diluțiilor în mediu solid** constă în determinarea CMI prin realizarea diluțiilor de antibiotic în agar Mueller-Hinton, repartizate în plăci Petri și însămânțarea tulpinii în volum de 2-3 μL calculând ca numărul de bacterii să corespundă la 10^4 UFC/spot; martorul de cultivare este asigurat prin includerea unei plăci cu agar Mueller-Hinton fără antibiotic. Pentru controlul de calitate însămânțăm în același sistem tulpina de referință cu CMI cunoscută. Metoda permite testarea pe aceeași placă a mai multor tulpini, fiind adaptată în special laboratoarelor care realizează studii epidemiologice ale fenomenului de rezistență.

(c) **Testul E (epsilon)** combină acuratețea testelor cantitative cu simplitatea metodei difuzimetrice, singurul dezavantaj constituindu-l costul. Pe suprafața mediului Mueller-Hinton repartizat în plăci Petri însămânțăm tulpina de testat în condițiile menționate pentru antibiograma difuzimetrică; după uscarea plăcii, plasăm corespunzător bandetele din plastic cu suprafața pe care este depus un gradient de concentrații de antibiotic, indicate pe o scală de lectură de pe fața opusă. După incubarea în condițiile menționate, stabilim CMI în raport cu diviziunea de pe scală unde zona eliptică a inhibării culturii intersectează bandeta (fig.7-11). Reproducibilitatea rezultatelor este verificată cu o tulpină de referință.

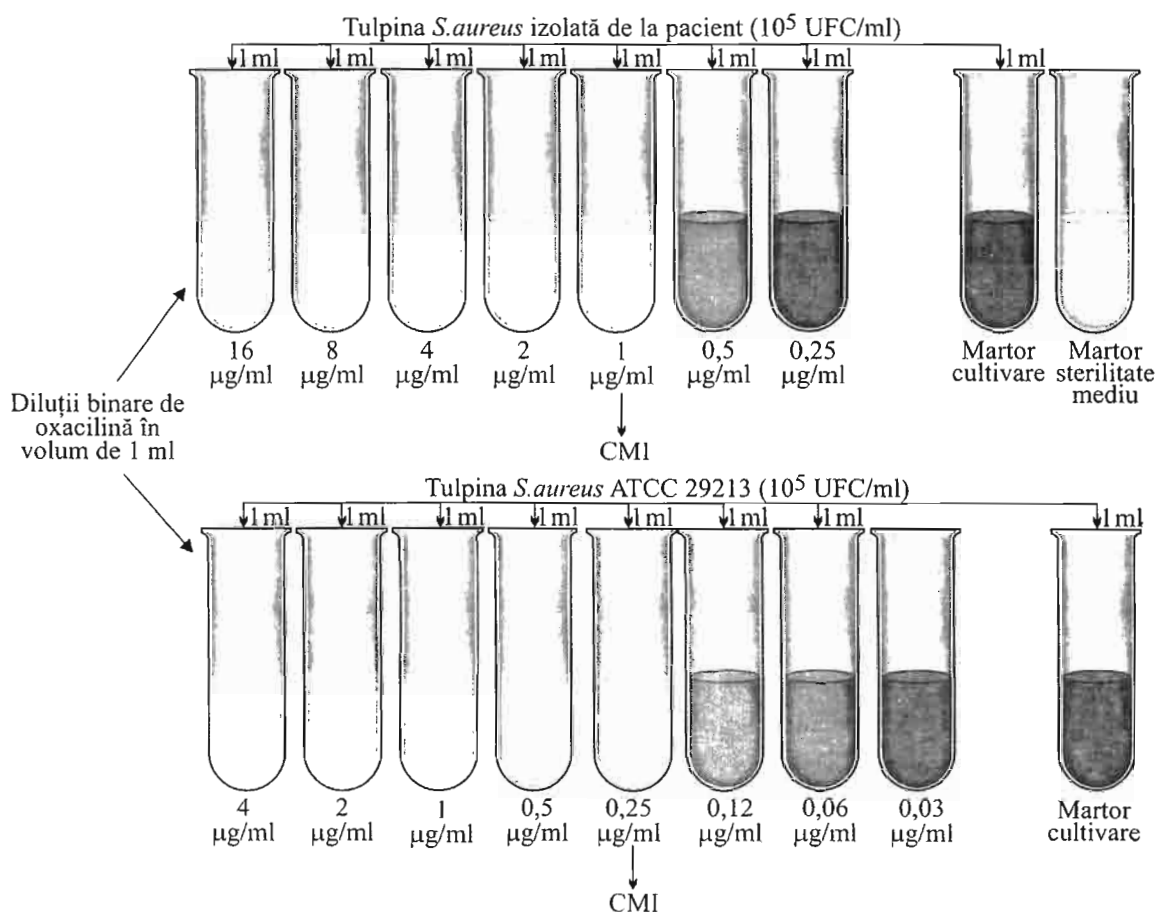


Fig. 7-10 Determinarea concentrației minime inhibitorii (CMI) prin metoda diluțiilor în mediu lichid

Determinarea CMB. Metoda diluțiilor în mediu lichid permite determinarea în continuare a CMB definită ca cea mai mică concentrație de antibiotic care omoară cel puțin 99,9% bacterii din inocul. Este o metodă laborioasă care în prezent este considerată lipsită de relevanță clinică, neoferind informații utile pentru monitorizarea antibioterapiei.

(III) Detectarea rapidă a β -lactamazelor.

β -lactamazele, enzime inactivatoare a antibioticelor β -lactamice pot fi depistate prin testul iodometric, testul acidimetric sau testul cu cefalosporine cromogene, ultimul fiind cel mai sensibil.

Testul cu nitrocefîn. Constă în depunerea unei colonii din tulpina de testat pe o rondelă din hârtie de filtru impregnată cu nitrocefîn, cefalosporină colorată în galben, care își modifică culoarea în roșu dacă tulpina este producătoare de enzimă. Controlul de calitate se realizează cu tulpini de referință producătoare sau nu de β -lactamază (CD 7-2).

Pot fi testate prin această metodă *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, specii *Staphylococcus*, *Enterococcus*; testul nu funcționează pentru bacili gram-negativi din familia *Enterobacteriaceae* sau genul *Pseudomonas* întrucât la aceste bacterii pot interveni mecanisme adiționale de rezistență.

B. Alegerea unui antibiotic în raport de sediul infecției. Cunoștințe de farmacocinetică privind absorbția antibioticelor, legarea de proteine serice, timpul de înjumătățire, difuzia în țesuturi, depășirea unor bariere anatomice (multe antibiotice realizează concentrații scăzute în LCR, os, prostată, ochi), eliminare sub formă activă prin urină sau bilă permit folosirea acelor antibiotice care s-au demonstrat active *in vitro* și totodată realizează concentrații active în focarul de infecție; de asemenea, pe baza acestor date se stabilesc doza, calea și ritmul de administrare a antibioticului.

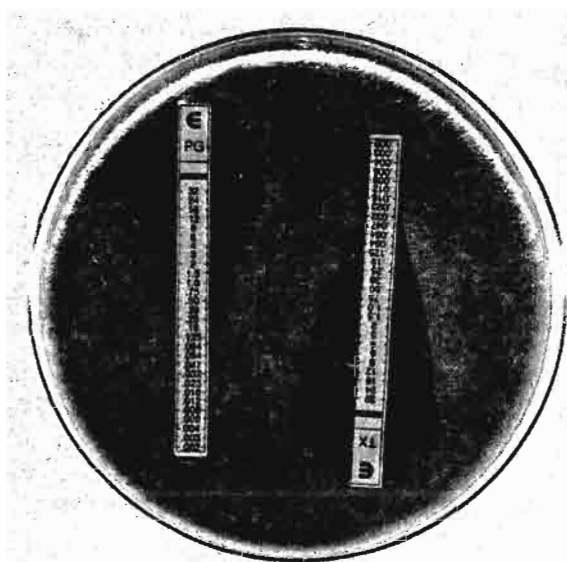


Fig. 7-11 Testarea cantitativă a sensibilității unei tulpini *S.pneumoniae* față de penicilină (PG) și ceftriaxonă (TX) prin "E-test"

C. Particularități individuale care influențează alegerea unui antibiotic. În conducerea antibioterapiei, trebuie să ținem seama de o serie de date legate de pacient:

- **vârstă:** la nou-născut și sugar folosim de preferință β -lactamine sau macrolide și de necesitate aminoglicozide; celelalte clase sunt contraindicate datorită fenomenelor adverse;
- **stări fiziologice:** aceleași antibiotice sunt permise în sarcină sau perioadă de alăptare;
- **tare organice:** la bolnavii cu insuficiență renală sau hepatică nu vor fi folosite antibiotice nefrotoxice sau hepatotoxice;
- **stări alergice:** în special la peniciline de biosinteză sau aminopeniciline (care nu contraindică obligator utilizarea ureidopenicilinelor sau cefalosporinelor);
- **stări de imunodepresie:** impun întotdeauna folosirea de antibiotice sau asociații de

antibiotice recunoscut bactericide.

D. Criterii ecologice. Antibiotice cu spectru larg pot rupe echilibrul microbiotei indigene, distrugând barierele biologice; este astfel favorizată proliferarea tulpinilor rezistente care ulterior pot fi răspândite în colectivitate. Din aceste considerente, întotdeauna vor fi preferate antibiotice cu spectru restrâns atunci când ele sunt active față de tulpina infectantă.

E. Criteriul economic: dintre două sau mai multe antibiotice cu eficacitate egală, va fi ales cel cu prețul de cost cel mai redus.

7.3.4.4. Utilizarea de antibiotice în asociere. Este tendința ca în cazul unor infecții grave să se asocieze 2 sau 3 antibiotice ce oferă un confort de securitate clinicianului, dar care expun pacientul la aceleași riscuri ca și în cazul antibioticelor cu spectru lărgit. În plus, există asociații antagoniste (efect antibacterian inferior față de acțiunea celui mai eficient antibiotic din combinație) și de asemenea crește riscul unor efecte toxice. Din aceste motive, utilizarea a două sau mai multe antibiotice la bolnav are indicații restrictive:

- tratamentul empiric al unor infecții grave;

- infecții mixte (intraabdominale, pneumonie de aspirație etc.);
- pentru obținerea unui efect sinergic (efect antibacterian mai mare decât suma efectelor antibioticelor asociate);
- prevenirea selecției de mutanți rezistenți în tratamente de lungă durată; rifampicina, acidul fusidic, fosfomicina, acid nalidixic, în plus ticarcilina sau ureidopeniciline în infecții cu *P. aeruginosa* nu se folosesc în monoterapie datorită riscului de dezvoltare rapidă a rezistenței secundare.

Testarea efectului antibacterian a două antibiotice poate fi realizată *in vitro* prin tehnici laborioase (testarea în tablă de șah, metode cinetice), care nu sunt folosite curent. În alegerea asocierii de antibiotice este necesar să se țină seama de câteva reguli generale:

- este contraindicată asocierea unui antibiotic bactericid cu unul bacteriostatic din cauza unui efect posibil antagonist (recunoscut pentru penicilină + tetraciclină);
- este contraindicată asocierea a două antibiotice cu mecanisme de acțiune identice (în cazul asocierii a două β -lactamice este posibil un efect de inactivare prin β -lactamaze cromosomale inductibile);
- sunt recunoscute cu efect sinergic următoarele combinații: ampicilină + gentamicină în infecții cu enterococi sau streptococi viridans; ticarcilina + aminoglicozide în infecții cu *P. aeruginosa*; cefalosporine + aminoglicozide în infecții cu *K. pneumoniae*;
- este contraindicată asocierea de aminoglicozide cu polimixine din cauza sumării efectelor nefrotoxice.

7.3.4.5. Dozarea serică a antibioticelor este importantă în adaptarea posologiei pentru antibiotice care prezintă risc de toxicitate, e.g., în tratamentul cu aminoglicozide sau glicopeptide la bolnavi cu insuficiență renală. Metode microbiologice de dozare au fost înlocuite cu metode chimice sau imunologice, mult mai rapide.

7.3.4.6. Aprecierea eficienței terapiei cu antibiotice poate fi realizată în orice infecție bacteriană după criterii clinice (scăderea febrei după 72 ore de tratament, ameliorarea stării generale a bolnavului), paraclinice (scăderea progresivă până la normalizare a valorilor CRP, procalcitoninei, fibrinogenului, VSH, normalizarea leucogramei) sau bacteriologice (negativarea examenelor bacteriologice).

În infecții severe (endocardite, meningite, septicemii), monitorizarea terapiei poate fi realizată prin **determinarea nivelului de eficiență bactericidă (NEB)** a serului pacientului față de tulpina infectantă (fig.7-12).

Recoltarea probelor de sânge: după 2-3 doze de antibiotic, recoltăm de la pacient două probe de sânge care corespund **nivelului minim** (imediat înainte de administrarea unei noi doze) și **maxim** (după 15-30 min de la administrarea i.v., 60 min de la administrarea i.m. și 90-120 min de la administrarea pe cale orală); după separarea serului, testul va fi realizat într-un interval cât mai scurt (cel mult 90 min de la recoltare).

Tehnica de lucru :

- efectuează diluții succesive din serul pacientului în bulion Mueller-Hinton, în volum de 0,5 mL;
- realizează inoculul prin suspensionarea unei culturi de 18 ore a tulpinii izolate de la bolnav la o densitate corespunzătoare etalonului 0,5 McFarland și diluează apoi până la obținerea unei concentrații de aprox. 10^5 UFC/0,5 mL;
- repartizează din această suspensie câte 0,5 mL în fiecare eprubetă cu diluțiile de ser;
- realizează **martor pentru cultivare** (bulion Mueller-Hinton fără ser) și **martor pentru sterilitatea mediului**;

Controlul infecției

- prelevă din matorul pentru cultivare 0,1 mL și realizează diluții 10^{-2} - 10^{-4} , apoi epuizează 0,1 mL din fiecare diluție pe câte o placă cu geloză nutritivă pentru cuantificarea bacteriilor din inocul;
- incubează eprubetele și plăcile 24 ore la 35-37°C;
- repică și etalează pe câte o placă cu geloză nutritivă 0,1 mL din fiecare diluție de ser unde cultura nu s-a dezvoltat;
- incubează în aceleași condiții noile plăci însămânțate.

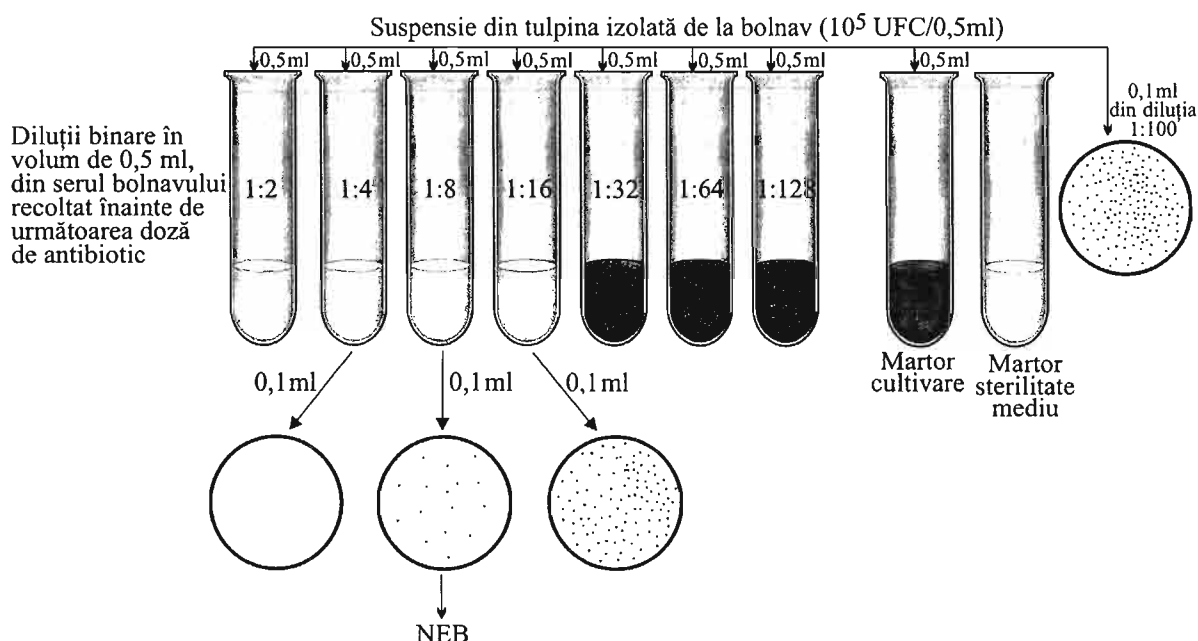


Fig. 7-12 Determinarea nivelului de eficiență bactericidă (NEB) a serului de bolnav

Citire și interpretare:

–raportează numărul de colonii din fiecare tub repicat la numărul de bacterii din inocul. NEB reprezintă reciproca celei mai mari diluții din ser care omoară cel puțin 99,9% din bacteriile însămânțate;

–în general, NEB maxim ≥ 32 și NEB minim ≥ 8 indică un dozaj adecvat al antibioticului la pacient în raport cu tulpina infectantă, constituind un argument previzibil pentru evoluția favorabilă a infecției.

În final, precizăm că **terapia cu antibiotice nu înlocuiește tratamentul chirurgical când acesta este necesar**: drenajul colecțiilor purulente, îndepărtarea dispozitivelor interne din plastic colonizate (catetere, proteze etc.), îndepărtarea corpurilor străine.

7.3.5. Agenți terapeutici antivirali

Virusurile, întrucât utilizează mecanisme de biosinteză ale celulei gazdă, creează dificultăți în obținerea de agenți terapeutici care să acționeze numai asupra unor ținte specifice; de aici un număr mult mai redus de compuși chimici cu toxicitate selectivă în raport cu antibioticele antibacteriene. Toți agenții antivirali utilizați în prezent au efect numai virostatic. Progrese înregistrate în cunoașterea mai aprofundată a etapelor replicării virale a permis identificarea de noi ținte potențiale, cercetările luând amploare în ultimii ani legat de

preocuparea descoperirii unor noi agenți terapeutici antiretrovirali. Alte dificultăți în realizarea tratamentului etiotrop al infecțiilor virale:

- în unele infecții manifestarea clinică apare după o incubatie lungă, când replicarea virusului în organism deja a avut loc;

- virusurile care dau infecții latente sunt sensibile la agenți antivirali numai în cursul reactivării infecției;

- în cursul administrării unui agent terapeutic virusurile pot dezvolta rezistență prin selecția de mutații.

Compuși chimici antivirali folosiți în terapie pot fi clasificați în două categorii: naturali și de sinteză.

7.3.5.1. Agenți antivirali naturali. Interferonii (IFN) sunt sintetizați de celulele organismului gazdă în cursul unei infecții virale, având un spectru larg de acțiune (☞ Subcapitolul 6.3.2.2.). Din cele trei tipuri (α , β și γ), în terapie este folosit IFN α .

Interferon α :

- mod de obținere: gena umană care codifică sinteza IFN α este clonată în celule bacteriene (*E. coli*);

- mecanism de acțiune: după legare la receptori celulari, inhibă replicarea virusului în special prin afectarea sintezei proteinelor virale, fără să influențeze sintezele proprii ale celulei gazdă;

- folosit numai pe cale injectabilă în terapia unor forme cronice agresive de hepatită cu virus B și C sau infecții cu papilomavirus (localizări genitale, laringiene);

- fenomene adverse: febră în primele zile de administrare, fatigabilitate, intoleranță digestivă, disfuncții hepatice, neuropatie periferică, depresia măduvei osoase hematopoietice.

7.3.5.2. Agenți antivirali de sinteză au diferite ținte de acțiune:

(I) Blocarea atașării virusului la receptori celulari s-a dovedit până în prezent o opțiune teoretică, întrucât peptide sintetice care mimează receptori celulari sau liganzi virali au fost rapid degradate și eliminate din circulație, nereușindu-se încă stabilizarea acestora; cele mai numeroase studii au vizat receptori limfocitari CD4 și glicoproteina de înveliș 120 a virusului imunodeficienței umane.

(II) Blocarea decapsidării virale.

- reprezentanți: **amantadina, rimantadina** (derivat mai puțin toxic);

- structură chimică: amine sintetice;

- mecanism de acțiune: cei doi compuși se leagă și blochează proteina M2, proteină minoră care formează canale de ioni ce intervin printr-un mecanism mai complex în decapsidarea virală; de asemenea interacționează cu transportul hemaglutininei virale spre zona de implantare de la nivelul membranei celulare, afectând astfel etapa finală de asamblare a virionului;

- activitatea antivirală: virusul gripal A;

- utilizat pe cale orală în profilaxia sau terapia precoce a gripei la persoane cu risc;

- fenomene adverse: în special din partea SNC (insomnie, anxietate, stări confuzionale).

(III) Inhibitori ai sintezei acidului nucleic viral

(a) Inhibitori ai ADN-polimerazei.

- reprezentanți: **aciclovir, famciclovir, ganciclovir**;

- structura chimică: analogi nucleozidici;

- mecanism și spectru de acțiune: inhibă ADN-polimeraza virală după activare prin fosforilare; în activarea intracelulară a aciclovirului și famciclovirului intervine, într-o primă etapă, timidinkinaza virusului herpes simplex 1 și 2 sau varicela-zoster, completată ulterior de timidinkinaza celulară, explicând astfel toxicitatea selectivă a acestor compuși (activarea are loc numai în celule infectate); ganciclovirul, activat numai prin kinaze celulare inhibă virusul citomegalic, lipsit de timidinkinază, toxicitatea selectivă fiind explicată printr-o afinitate mai mare a compusului activat pentru polimeraza virală, față de cea celulară;

- produși cu administrare locală, orală sau parenterală, folosiți în tratamentul keratitei herpetice, herpesului primar genital, infecției herpetice la nou-născuți și imunodepresați, encefalitei herpetice, herpesului zoster (aciclovir, famciclovir) sau infecțiilor sistemice și retinitei cu virusul citomegalic la imunodepresați (ganciclovir);

- fenomene adverse: renale, în cazul aciclovirului, neutropenie și trombocitopenie uneori severă în tratamentul cu ganciclovir.

Idoxuridina, vidarabina au fost primii compuși folosiți în tratamentul infecției herpetice, dar din cauza efectelor toxice sistemice nu se utilizează în prezent decât în aplicații locale.

(b) Inhibitori ai reverstranscriptazei.

- reprezentanți: **zidovudina** (azidotimidina, AZT), **didanozina** (dideoxiinozina, ddI), **zalcitabina** (dideoxicitidina, ddC), **stavudina**, **lamivudina**;

- structura chimică: analogi nucleozidici;

- mecanism și spectru de acțiune: sunt activați prin fosforilare de către kinaze celulare, blocând sinteza ADN a virusului imunodeficienței umane; toxicitatea selectivă se explică prin afinitatea mai mare a acestor compuși pentru ADN-polimeraza ARN-dependentă virală, față de ADN-polimeraza ADN-dependentă celulară; unii compuși au activitate față de virusul hepatitei B;

- utilizați pe cale orală în tratamentul infecției cu virusul imunodeficienței umane, de regulă asociind doi compuși din acest grup care nu dezvoltă rezistență încrucișată cu un al treilea compus cu un mecanism diferit de acțiune;

- fenomene adverse: AZT determină anemie, granulopenie, cefalee, insomnii; ddI și ddC pot determina neuropatie periferică; ceilalți compuși sunt mai bine tolerați.

(IV) Inhibitori ai proteazelor virale.

- reprezentanți: **indinavir**, **saquinavir**, **ritonavir**;

- structură chimică: peptide sintetice;

- mecanism de acțiune: proteine virale pot fi sintetizate, într-o fază inițială, sub formă de poliproteine, care apoi sunt clivate de proteaze virale în mai multe proteine funcționale; compușii menționați reproduc situsul de clivaj al proteazelor virale;

- utilizați în tratamentul infecției cu virusul imunodeficienței umane, realizând asociații sinergice cu inhibitori ai reverstranscriptazei;

- proprietăți farmacocinetice: compuși cu slabă disponibilitate pe cale orală, fiind rapid degradați în organism.

(V) Alte mecanisme de acțiune.

Foscarnet

- structură chimică: derivat de pirofosfat;

- mecanism și spectru de acțiune: nu necesită activare prin kinaze virale sau celulare; inhibă direct ADN-polimeraza virusurilor herpetice și reverstranscriptaza virusului imunodeficienței umane, polimerazele virale fiind inhibate de concentrații de 10-100 ori mai mici decât polimeraza celulară; realizează efect sinergic în asociație cu aciclovir, ganciclovir sau AZT;

- utilizat pe cale i.v. în special în infecții cu virusul citomegalic la imunodepresati;
- fenomene secundare: nefrotoxic.

Ribavirin

- structură chimică: compus non-nucleozidic;
- mecanism și spectru de acțiune: inhibă replicare unor virusuri ARN – mixovirusuri, arenavirusuri (virusul Lassa), bunyavirusuri (virusul Hantaan) sau ADN – virusurile herpetice, acționând pe ținte multiple;

- utilizat în special în aerosoli pentru tratamentul infecției cu virusul respirator sincițial la sugari.

„Alexander Ogston, în 1880' chirurg asistent la Aberdeen Royal Infirmary, respectând întocmai metodele lui Koch, a examinat bacteriile din 100 de abcese...cu ajutorul hemocitometrului a găsit că numărul cocilor pe mm^3 de puroi era aproape de 3 milioane...După injectarea puroiului...Ogston a descris clar simptomele și leziunile, a arătat că numărul cocilor în leziunile experimentale crește mult și că boala experimentală inflamatorie poate fi transmisă în serie...Puroiul încălzit, atât cât să omoare cocii, sau tratat cu fenol a fost inert.”

WILLIAM BULLOCH

Numele de *Staphylococcus* a fost introdus, în 1880, de către chirurgul scoțian Sir Alexander Ogston pentru a sugera dispoziția caracteristică, predominant în grămezi (gr. *staphyle*, ciorchine). Dintre cele 33 specii de *Staphylococcus* identificate în prezent, 16 specii au fost izolate de la om. Specia cu cel mai important potențial patogen pentru om este *S. aureus*, care produce coagulază. Acest caracter îl diferențiază de toți ceilalți stafilococi găzduiți de om, care sunt coagulază-negativi.

Minidefiniție. Bacteriile din genul *Staphylococcus* sunt coci gram-pozitiv dispuși izolat, în perechi, scurte lanțuri, dar mai ales în grămezi neregulate, cu variații de dimensiuni (0,5-1,5 μm), imobili și nesporulați. Cele mai multe specii sunt catalază-pozitive și facultativ anaerobe, dar cresc mai bine aerob. Există și excepții, specii care preferă anaerobioza (e.g., *S. saccharolyticus*, *S. aureus*, subsp. *anaerobius*). Nepretențioși nutritiv, cultivă pe majoritatea mediilor uzuale și tolerează concentrații de peste 5% NaCl, unele specii fiind chiar halofile.

8.1. STAFILOCOCII (COAGULAZĂ-POZITIVI)

(1) **Habitat.** *Staphylococcus aureus* este găzduit în nări sau/și intestin. Prezența pe tegumente este tranzitorie. Contaminează frecvent ambientul prin scuame, mâini, excrete. Îl izolăm din pulberi, de pe așternut, lenjeria intimă, haine, mobilier, alimente.

(2) **Caracterele microscopice** sunt cele ale genului. În culturi bătrâne și în puroi pot să apară și coci gram-negativi printre cei gram-pozitivi (CD 8-1,2).

(3) **Caractere de cultivare.** Pe geloză nutritivă formează, peste noapte la 37°C, colonii S, mari, rotunde, bombate, de consistență untoasă, pigmentate diferit: în portocaliu, galben sau alb. Pigmentogeneza, caracter variabil, este mai intensă în prezența aerului și la temperatura camerei. Pe geloză-sânge coloniile sunt frecvent hemolitice (CD 8-3). Se acomodează la variații mari de pH și temperatură (10-45°C). Capacitatea lor de a crește pe medii cu sare permite izolarea din produse patologice contaminate (e.g., materii fecale, exsudat nasofaringian).

(4) **Rezistența la factori de mediu.** *Staphylococcus aureus* este foarte rezistent: în puroi uscat, la întuneric, poate supraviețui 2-3 luni, dar este distrus după 30 de minute la 62°C căldură umedă, după 15 minute sub acțiunea fenolului în soluție 2%, a alcoolului etilic de 70°. Rezistă la acțiunea lizozimului, la acțiunea bactericidă nespecifică a serului și a acizilor grași

de pe tegument. În produse de carne rezistă 60 de zile iar în carcase de animal 42 de zile.

(5) ,(6) Structura antigenică și virulență. Diferențiem: antigene somatice profunde și superficiale, glicocalixul (fig.8-1), antigene solubile.

Antigene somatice dispuse profund:

(i) *Peptidoglicanul* antrenează în organismul bolnavilor efecte cum sunt febra, prin producere de pirogen endogen, activarea complementului, chimiotactism pentru fagocite, trombocitopenie și dermonecroză.

(ii) *Acidul ribitol teichoic* are specificitate de specie, induce formare de anticorpi, după infecții repetate determină reacții de sensibilizare. Funcționează ca ligand la receptori celulari ai mucoaselor și este la rândul lui receptor pentru bacteriofagi.

Antigene somatice dispuse superficial:

(i) *Proteina A*, prezentă în cantități variabile la cca 90 % dintre tulpini, fixează caracteristic fragmentul Fc al imunoglobulinelor G umane din subclasele G₁, G₂ și G₄, proprietate utilizată pentru prepararea de bioreactivi (e.g., utili în reacția de coaglutinare, ☞ Subcapitolul 39.3.3).

(ii) *Antigene specifice de tip*, care sunt însă marcheri epidemiologici mediocri din cauza circulației largi a unora dintre serotipuri.

(iii) *Proteina de legare a fibronectinei*.

(iv) *Proteina de legare a collagenului*.

(v) *Coagulaza legată* (☞ mai jos).

Glicocalixul are efecte antifagocitare și protectoare față de complement. La unele tulpini formează capsulă.

Substanțele elaborate de *S. aureus* sunt prezentate în tabelul 8-1.

Tabelul 8-1 Factori de patogenitate ai *S. aureus*

Factori asociați bacteriei	Produsi extracelulari
Capsulă	Hemolizine (α , β , γ , δ)
Proteina A	Leucocidina
Coagulaza legată	Toxina epidermolitică (exfoliativă)
Proteina de legare a fibronectinei	Enterotoxine (A-F)
Proteina de legare a collagenului	Toxina sindromului șocului toxic (TSST-1)
	Coagulaza liberă
	Stafilokinaza
	Catalaza
	Lipaze
	Hialuronidaza

(i) *Hemolizinele*, în număr de 4 (α , β , γ și δ), sunt citotoxine cu numeroase activități biologice. Mai frecvent implicate în patologia umană sunt hemolizinele α și δ . Hemolizina α are efect letal pentru mai multe tipuri de celule, inclusiv PMN umane. Lizează eritrocitele umane și ale mai multor specii animale. Toxina α se leagă de receptori celulari specifici și produce pori membranari. Efectul asupra eritrocitelor este litic, iar asupra monocitelor stimulant pentru eliberarea de citokine. Toxina α este cel mai important factor de patogenitate al *S. aureus*. Hemolizina δ este un peptid cu efecte citotoxice care inhibă absorbția apei în intestin și a fost incriminată în patogenia enterocolitelor post-antibiotice. Mai este produsă de *S. epidermidis* și de *S. lugdunensis*.

(ii) *Leucocidina* este toxică pentru fagocite. În general doar 2% dintre tulpini produc leucocidină, dar tulpinile izolate din infecții dermonecrotice severe o eliberează în proporție de 90%.

(iii) *Toxinele epidermolitice sau exfoliative* sunt reprezentate de 2 proteine codificate plasmidic. Acționează la distanță de focarul infecțios. Rup desmosomii stratului granulos și determină formarea de bule epidermice cu pierdere de fluide prin epiderma lezată. Tulpinile care produc una sau ambele toxine sunt cauza „sindromului pielii opărite”. Ambele toxine sunt antigenice iar anticorpul omolog are rol protector.

(iv) *Enterotoxine* Peste 90 % din tulpinile circulante de *S. aureus* produc una sau mai multe dintre cele șapte tipuri antigenice: A, B, C1, C2, C3, D și E. Enterotoxinele stafilococice rezistă la acțiunea enzimelor digestive și la fierberea timp de 30 minute. Determină toxiinfecții alimentare după ingestia alimentelor în care au fost preformate. Cel mai frecvent implicate în patologia umană sunt enterotoxinele A și D. Enterotoxina B este posibil implicată în patogenia sindromului șocului toxic stafilococic ca și a enterocolitei stafilococice post-antibiotice.

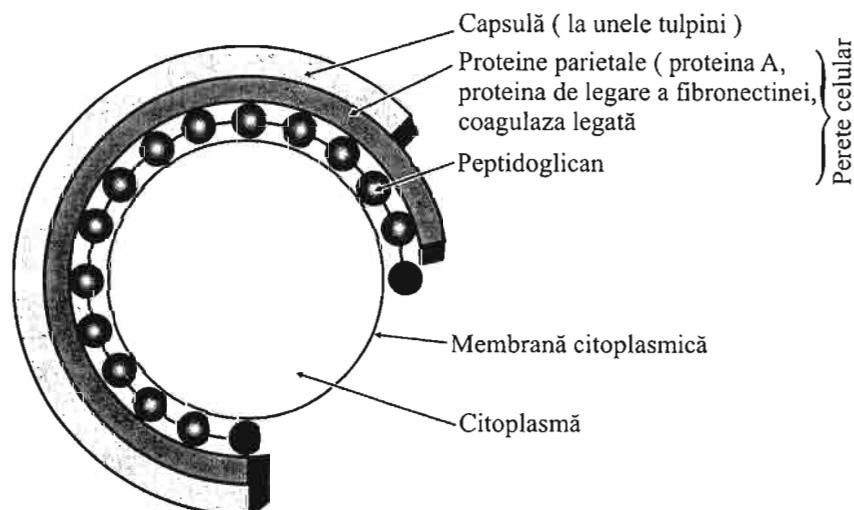


Fig. 8-1 Structura învelișurilor *Staphylococcus aureus*

(v) *Toxina 1 a sindromului șocului toxic stafilococic (TSST-1)* sau toxina pirogenă a fost identificată la tulpinile de stafilococ implicate în etiologia acestui sindrom. Poate fi identificată prin: latexaglutinare, ELISA, imunobloturi pe coloană ș.a.

(vi) *Enzimele implicate în patogenia infecției stafilococice* sunt reprezentate de hialuronidază, stafilokinază, coagulaze și lipaze.

- *Hialuronidaza* hidrolizează matricea intercelulară mucopolizaharidică tisulară, determinând, mai ales în fazele inițiale ale infecției, diseminarea acesteia.

- *Stafilokinaza*, produsă prin conversie lizogenică de stafilococi în fază staționară, este fibrinolitice prin activarea plasminogenului. Prin liza trombilor septici intravenoși ar putea realiza diseminarea infecției cu apariția metastazelor septice.

- *Coagulaza* există sub două forme, liberă și legată.

Coagulaza liberă este o proteină extracelulară care formează cu protrombina un complex numit stafilotrombină. Acțiunea proteazică a trombinei devine efectivă secundar activării ei la nivelul complexului, soldându-se cu transformarea fibrinogenului în fibrină. Pentru depistarea coagulazei libere suspensionăm cultura de stafilococ în cca 1 mL de plasmă citratată, oxalatată sau heparinată de om sau de iepure repartizată într-un mic tub. Coagularea plasmei după incubarea câteva ore a suspensiei la 37°C indică un test pozitiv.

Rolul patogen al coagulazei libere pare a fi dublu: de a îngloba cocii într-o tramă fibrinoasă, care i-ar proteja față de fagocite, și de a forma trombi implicați în patogenia

tromboflebitelor supurate.

Coagulaza legată de peretele stafilococilor fixează fibrinogenul și determină aglutinarea cocilor („clumping factor”).

Obişnuit cei doi factori coagulanți sunt prezenți simultan la aceeași tulpină. Cele mai multe (94%) din tulpinile de *S. aureus* produc coagulează. De aceea testul coagulezei este foarte important pentru identificarea definitivă a acestei specii.

•*Lipazele* sunt active asupra lipidelor din plasmă și din sebum. Aceasta explică tropismul stafilococilor pentru unitatea pilosebacee. Virulența scade când sinteza lipazelor este reprimată în cursul găzduirii unor profagi.

(7) Patogenitate naturală și patogenează. În pofida portajului relativ ridicat, frecvența infecțiilor stafilococice nu este foarte mare. Factorii care favorizează apariția stafilocociilor sunt: deficiențele chemotaxiei leucocitare: congenitale (sindromul Down, sindromul Job) sau dobândite (diabet, artrită reumatoidă); deficiențe ale opsonizării prin anticorpi (hipogamaglobulinemie); deficiențe ale distrugerii intracelulare a bacteriilor secundar fagocitozei (boală granulomatoasă cronică); leziuni cutanate (arsuri, incizie chirurgicală, eczeme); prezența de corpi străini (suturi, proteze intratisulare); infecții cu alte microorganisme; boli cronice (neoplazii, boli cardiace, alcoolismul); administrarea preventivă sau terapeutică a antibioticelor.

Infecțiile cutanate. *Foliculita* este cea mai frecventă infecție, produsă de *S. aureus* acumulat la nivelul foliculului pilos. Extinderea infecției la nivelul glandei sebacee cauzează apariția *furunculului* (CD 8-4), iar cuprinderea mai multor unități pilosebacee și a țesutului celular subcutanat cauzează *carbunculul* sau *furunculul antracoid*. Când infecția afectează unitățile pilosebacee axilare sau perineale, care au și glande sudoripare apocrine, determină *hidrosadenita*. Reacțiile de hipersensibilizare întârziată față de antigenele stafilococice (e.g., acidul teichoic) duc la exacerbarea reacțiilor inflamatorii și necrotice din focar. În aceste infecții apar dermonecroză, acumularea țesutului necrozat cu apariția de puroi, care drenează la exterior. *Panarițiile* sunt printre cele mai frecvente infecții stafilococice. *Impetigo* este o infecție a epidermei ce afectează mai ales copiii mici, localizată predilect la nivelul fetei sau membrelor. Inițial apar macule care apoi formează vezicule pline de puroi, având la bază o zonă eritematoasă. Pe locul pustulelor rupte se formează cruste. Mai frecvent este determinat de streptococul de grup A dar și de stafilococ sau de asocierea lor.

Sindromul pielii opărite sau boala Ritter este o necroză de natură toxică a epidermului. Debutul este brusc, cu eritem perioral localizat, care apoi se extinde la nivelul corpului, în 2 zile. La presiunea ușoară a tegumentului, stratul superficial al epidermului se clivează (*semnul Nikolsky*). Curând, apar bule mari cu lichid, urmate de ruperea straturilor superficiale ale epidermei (CD 8-5). Bulele conțin lichid clar, fără microorganisme, ceea ce susține teoria toxică a acestei afecțiuni. Vindecarea survine la 7-10 zile de la apariția anticorpilor protectori. O formă localizată a acestui sindrom, asociată cu unele tulpini de stafilococ, este impetigo bulos. În acest caz cultura este pozitivă iar semnul Nikolsky absent.

Infecții ale mucoaselor: otite și sinuzite complică infecții virale. Infecții uterine apar *postabortum*.

Pneumonia și empiemul. *Staphylococcus aureus* poate determina infecții respiratorii descendente sau hematogene, secundar diseminării de la un focar aflat la distanță. Grav evoluează bronhopneumoniile buloase determinate de *S. aureus* ca suprainfecții la pacienții cu gripă. Empiemul afectează aproximativ 10% dintre pacienții cu pneumonie; 1/3 din empieme sunt produse de *S. aureus*.

Infecții bacteriemice, septicemice sau metastatice. Frecvent stafilococemiile evoluează cu metastaze septicice viscerale, (e.g., pleuropulmonare, renale, endocardice). Localizarea nasogeniană poate evolua grav din cauza riscului tromboflebitei faciale cu

extindere endocraniană prin intermediul sinusului cavernos; de aceea această formă evolutivă a fost numită și *stafilelococia malignă a feței*. *Endocardita stafilelococică* este o infecție severă, cu o mortalitate de 50%. *Osteomielita* și *artritele septice* produse pe cale hematogenă sau post-traumatice, au hemoculturile pozitive în numai 50% din cazuri. *Abcesul Brodie* este o formă particulară de osteomielită a adultului, localizată la nivelul metafizei oaselor lungi. *Staphylococcus aureus* este cel mai frecvent agent etiologic al artritelor septice la copiii mici ca și la adulții care primesc injecții intraarticulare ori au anomalii mecanice intraarticulare.

Toxiinfecții alimentare: după o incubatie scurtă, de 2-3 ore, apar hipersalivație, grețuri, vărsături, dureri abdominale, uneori diaree apoasă, fără febră. Vindecarea spontană survine după 1-2 zile prin eliminarea toxinei din organism.

Sindromul șocului toxic stafilelococic (SSTS), care a fost raportat inițial asociat utilizării de tamponane intra-vaginale, hiperabsorbante, iar mai apoi, și ca o complicație a abceselor stafilelococice, a osteomielitelor, a suprainfectării plăgilor chirurgicale sau a pneumoniilor stafilelococice postgripale. Evoluează cu febră înaltă, hipotensiune, vărsături, mialgii și exantem cutanat scarlatiniform, urmat de descuamarea tegumentului la nivelul palmelor și plantelor. Pacientele cu SSTS au, în 100% din cazuri, vaginul și tamponul intravaginal colonizate cu tulpini de *S. aureus* producătoare de TSTS-1. Frecvent, aceste tulpini produc și enterotoxină F. Pe lângă TSTS-1, peste 90% dintre tulpinile izolate din sindroame non-menstruale produc și enterotoxină B. Riscul unei recurențe, în absența tratamentului cu antibiotice, este de 65%.

(8) Imunitatea antistafilelococică este puțin cunoscută: nu știm de ce lipsește o corelație între titrul unui anumit anticorp și rezistența sau receptivitatea la infecție. Anticorpii anti-leucocidină fac excepție (par a fi protectori față de infecțiile recurente). Nu se știe, de asemenea, de ce vaccinul antistafilelococic (anatoxina, vaccinul polivalent, autovaccinul) stimulează rezistența imună specifică a organismului doar la 50% dintre vaccinați.

(9) Diagnosticul de laborator este orientat în funcție de sindromul clinic. Examinăm: puroiul, sângele, sputa, materiile fecale, alimentele incriminate etc. **Microscopia directă** are valoare numai în cazul prelevatelor necontaminate. **Izolarea *S. aureus*** o facem pe geloză-sânge sau din probele intens contaminate (e.g., fecale), pe un mediu selectiv hiperclorurat cu manitol și roșu fenol, cum este mediul **Chapman** agarizat. În cazul toxiinfecțiilor alimentare se recomandă izolarea *S. aureus* din alimentele incriminate, lichidul de vărsătură și/sau materiile fecale, leziunile deschise purulente, nările și mâinile personalului care a manipulat sau preparat alimentele respective. Probele de alimente trebuie preincubate, pentru îmbogățire, în bulion Chapman. **Identificarea** izolatelor o facem pe baza caracterelor de cultivare, microscopice, testul catalazei și coagulazei. În investigațiile epidemiologice este necesară lizotiparea.

Examenul serologic aduce rar date utile.

(10) Elemente de terapie etiotropă: infecțiile minore (e.g., impetigo, furuncule) se vindecă spontan, după ce drenează. Antiseptizarea și drenajul chirurgical al colecției sunt, de regulă, suficiente nefiind necesară antibioterapia sistemică; se folosesc în aplicații topice: bacitracină, acid fusidic, mupirocin, clorhexidină, etc. Aplicarea lor la nivelul nărilor preîntâmpină răspândirea agentului patogen de la purtătorii sănătoși ca și infecțiile recurente prin autoînsămânțare. Pentru cei din anturaj se impun aceleași măsuri. Aplicarea pomezilor antistafilelococice la nivelul nărilor trebuie făcută de 2 ori pe zi, timp de 4 săptămâni și urmată de control bacteriologic.

În infecțiile severe (e.g., septicemii, bronhopneumonii) se impune antibioterapia, care pune două categorii de probleme: (i) penetrarea redusă a antibioticului în focar datorită țesutului necrotic și a fibrinei în mari cantități, și (ii) rezistența stafilelococilor la antibiotice. Drenajul chirurgical al colecțiilor închise este esențial. Tratamentul trebuie condus după

antibiogramă, cu doze mari de antibiotic care asigură efectul -cid în focarul de infecție înaintea selectării unei clone rezistente. Pentru izolatele din septicemii se impune determinarea concentrației minime bactericide (CMB), deoarece concentrația minimă inhibitoare (CMI) poate fi încadrată în mod fals în limitele normale ale sensibilității pentru penicilină și oxacilină, datorită fenomenului de toleranță. În cazul unei tulpini tolerante, schema terapeutică trebuie reevaluată. Antibioticul de elecție în infecții cu tulpini neproducătoare de β -lactamază este penicilina, iar în cele cu tulpini producătoare (astăzi în procentaj de peste 90%) se impune utilizarea unei peniciline M (e.g., meticilină ori izoxazolilpeniciline ca oxacilina, cloxacilina). Alte antibiotice utile sunt: eritromicina, lincomicina (mai ales în infecțiile osoase) pristinamicina, fucidina, vancomicina. Este indicată păstrarea „în rezervă” a unuia sau a mai multor antibiotice (e.g., vancomicina, lincomicina). Tulpinile de *S. aureus* rezistente la meticilină au rezistență multiplă: la toate antibiotice β -lactamice și adesea la macrolide, aminoglicozide, cotrimoxazol. Pot fi tratate cu vancomicină. Începând cu anul 1996 au apărut tulpini de *S. aureus* cu rezistență intermediară la vancomicină. Iar din anul 2002 s-au izolat, în SUA, și tulpini rezistente la vancomicină. În aceste cazuri singura posibilitate terapeutică o mai oferă dalfopristina + quinupristina.

(11) Epidemiologie. Stafilococii sunt ubicuitari, rezervorul de infecție este reprezentat de bolnavi și de purtătorii sănătoși. Pacienții colonizați reprezintă principala sursă de stafilococ în mediul de spital. Aproximativ 10-40% dintre vizitatorii și pacienții recent admiși în spital sunt purtători sănătoși de *S. aureus*. Transmiterea stafilococului se poate face direct, prin intermediul picăturilor Flügge, în condițiile contactului interuman strâns. Purtătorii nazali au un rol important în transmiterea bacteriei. Personalul medical se poate contamina de la pacienți și, la rândul lor, pot transmite infecția altor pacienți. Procentajul purtătorilor nazali de *S. aureus* din personalul de spital poate ajunge la 70-80%. Transmiterea *S. aureus* prin modul indirect presupune vehicularea acestuia de la surse la receptivi prin aer, pulberi septice, obiecte, alimente, mâini sau insecte contaminate. Dintre pacienții colonizați cu tulpini de *S. aureus* rezistente la meticilină, 30-60% vor evolua spre diverse infecții: bacteriemii, infecții ale plăgilor, infecții urinare sau pulmonare. Colonizarea cu astfel de tulpini este mai frecventă la nivelul nărilor, plăgilor cronice, ulcerelor de *decubitus*, perineului și în jurul orificiilor de gastro- sau traheostomie, fiind eliminate prin urină și spută.

(12) Profilaxie. *Profilaxia generală* presupune măsuri stricte de antisepsie, aseptie și igienă individuală în secțiile de terapie intensivă, de arși, de chirurgie cardio-vasculară sau neonatologie. Rezistența deosebită a *S. aureus* în mediul extern impune respectarea măsurilor de decontaminare și sterilizare corectă a instrumentarului medical și nemedical, de dezinfecție a pardoselilor, mobilierului și echipamentelor. Protecția plăgilor operatorii prin aseptie și antisepsie poate preveni infecțiile postoperatorii stafilococice. *Profilaxia specială*. Purtătorii nazali ai tulpinilor epidemigene agresive de *S. aureus* (lizotipurile 52, 52A, 80, 81, 83A) trebuie carantinați față de pacienții cu risc crescut (sălile de operație, de pansamente, serviciile de terapie intensivă etc.) până la eradicarea portajului prin aplicații topice nasale de unguente cu antibiotice antistafilococice. *Profilaxia specifică*: *S. aureus* are antigene multiple, dar slab imunogene. Au existat numeroase încercări de imunizare activă, care au urmărit să asocieze cât mai multe antigene cu excluderea acelor corpusculare, sensibilizante. Pot fi utilizate vaccinuri inactivate asociate cu anatoxine. Au fost utilizate numeroase „autovaccinuri”, dar cu eficiență necorespunzătoare (protecție la 50% din pacienți). Vaccinurile candidate, moderne, includ recombinanți genetici și polipeptide sintetice.

8.2. STAFILOCOCCII COAGULAZĂ-NEGATIVI

Considerați în trecut nepatogeni, în ultimii 20 de ani, locul lor în patologie a fost

reconsiderat datorită creșterii numărului manevrelor medicale invazive (e.g., sonde, catetere de material plastic) sau a inserțiilor protetice (e.g., valve cardiace, șunturi, proteze vasculare și articulare). Dintre speciile umane, majoritatea colonizează nările și tegumentul. Cu excepția *S. epidermidis*, omniprezent pe tegumente, celelalte specii au tropism pentru anumite biotopuri: scalp, față, conduct auditiv extern, regiunea perineală etc. *Staphylococcus epidermidis* are potențial patogen mai mare, datorită aderenței la suprafețele de inserție prin glicocalixul pe care îl produce. Determină infecții de cateter. În secțiile de chirurgie cardio-vasculară poate determina infecții de *pace-maker*, infecții ale grefei vasculare, endocardită subacută a valvelor protezate. Poate fi patogen primar în infecțiile asociate cu șunturile lichidului cefalorahidian, protezele articulare, dispozitivele ortopedice sau în cazul pacienților cu dializă peritoneală ambulatorie cronică, fiind frecvent izolat și din infecții ale tractusului urinar: cistită, uretrită, pielonefrită. A fost implicat și în infecții articulare în absența unor factori predispozanți și, mai rar, în osteomielite. Uneori determină infecții oculare, cum sunt endoftalmitele postchirurgicale. Spectrul actual de sensibilitate la antibiotice este similar cu al *S. aureus*. Frecvența tulpinilor rezistente la meticilină este cel puțin tot atât de mare ca și în cazul stafileococilor aurii.

Staphylococcus saprophyticus este frecvent asociat infecțiilor urinare, la femei și bărbați tineri, activi sexual, la care determină uretrite, prostatite, pielonefrite dar și infecții ale plăgilor sau septicemii. *Staphylococcus haemolyticus* a fost izolat în endocardite subacute chiar în absența protezelor valvulare, ca și din septicemii, peritonite, infecții ale tractusului urinar, ale plăgilor chirurgicale, ale oaselor sau articulare. Dintre speciile recent descrise, *S. lugdunensis* și *S. scheleiferi* sunt considerați oportuniști semnificativi. Pot coloniza cateterele, tuburile de dren etc. *Staphylococcus lugdunensis* determină endocardite pe valve protetice sau native, infecții de cateter, septicemii, abcese cerebrale, infecții profunde, osteite, osteoartrite cronice, infecții ale protezelor vasculare, infecții cutanate și ale plăgilor, infecții ale lichidului peritoneal. *Staphylococcus scheleiferi* a fost implicat ca agent etiologic al empiemului cerebral, infecții ale plăgilor, bacteriemiiilor, osteitelor rahisului și infecțiilor de cateter.

CARMEN PÂNZARU

"In 1968 there was an outbreak of infection among 74 adults and 11 children in a town in Romania, causing sore throat, fever and lymphadenitis, complicated by post-streptococcal glomerulonephritis in one-third of patients. Consumption of improperly pasteurized milk was implicated and *S. zooepidemicus* was isolated from cows with mastitis (Duca et al. 1969)."

ANITA RAMPLING, 1998

"Although no cases of rheumatic fever following infection with group C or G strains have been documented, acute glomerulonephritis may occur after pharyngeal infection or other types of infection with these streptococci (Duca et al. 1969, Stryker, Fraser and Facklam 1982, Barnham, Thornton and Lange 1983, Cohen et al. 1987, Gann et al. 1987, Manian et al. 1992)."

KATHRYN L RUOFF, 1998

Denumirea *Streptococcus* (gr. *streptos* lanț, *coccus* boabă) a fost folosită pentru prima dată de Billroth (1874) pentru a descrie cocii în lanțuri prezenți într-o plagă infectată. Mai târziu Pasteur (1879) și Rosenbach (1884) denumesc specia *Streptococcus pyogenes* și îi descriu morfologia, caracterele de cultivare, virulența pentru iepure.

Minidefiniții. (1) **Genul *Streptococcus*** reunește coci gram pozitivi, sferici sau ovali, așezați în perechi sau lanțuri; imobili, nesporulați. Unele specii au capsulă. Sunt pretențioși nutritiv. Facultativ anaerobi, cresc mai bine la presiuni reduse ale oxigenului, chiar anaerob, și în prezența a 5% CO₂. Fermentează glucoza cu producere de acid lactic, niciodată de gaz. Sunt catalază negativi. Uzual sunt hemolitici. (2) **Genul *Enterococcus*** a fost diferențiat din genul *Streptococcus* față de care se particularizează prin: mobilitatea unor tulpini printr-un număr redus de flageli și capacitatea de a crește la 10° și 45°C, la pH 9,6 și în medii cu 6,5% NaCl sau de a hidroliza esculina în medii cu 40% bilă.

Tot din clasicul gen *Streptococcus* au fost separate și genurile: *Lactococcus* (streptococi din produse lactate), *Vagococcus* (streptococi mobili), și *Abiotrophia* (streptococi dependenți de grupările *thiol*, vitamina B₆ sau piridoxal). Singurul cu interes medical dintre aceste genuri este *Abiotrophia*, găzduită în microbiota căilor aerodigestive superioare, intestinului sau vaginului și ocazional cauză de endocardite, abcese cerebrale, infecții ale plăgilor și urinare.

9.1. GENUL *STREPTOCOCCUS*

Pentru identificarea preliminară a numeroaselor specii ale genului, clasificăm streptococii în raport cu aspectul hemolizei pe geloză-sânge și antigenic. **După aspectul culturii pe geloză-sânge** distingem 3 categorii de streptococi: **β-hemolitici**: colonii înconjurate de o zonă clară de hemoliză completă (CD 9-1), datorată producerii de hemolizine; **α-hemolitici**: colonii înconjurate de o zonă de culoare verzuie de hemoliză incompletă (CD 9-2), datorată producerii de peroxid de hidrogen; **nehemolitici**. Multe specii de streptococi au un singur tip de hemoliză, dar câteva dau mai mult decât un tip. Caracterul hemolizei este influențat de compoziția mediului de bază, specia de animal de la care provin hematiile și atmosfera de incubare.

Clasificarea antigenică a fost inițiată de Rebecca Lancefield în 1933. Este condiționată de prezența antigenului specific de grup, respectiv polizaharidul C din peretele

Streptococii și enterococii

celular (fig.9-1), prezent la toate grupele cu excepția grupului D la care este format din acidul glicerol-teichoic. După acest criteriu streptococii se împart în:

- Streptococi grupabili (20 de grupe serologice notate cu literele A-H și K-W), prin reacții de precipitare, latexaglutinare, coaglutinare.

- Streptococi negrupabili, cei fără antigen de grup (mulți sunt comensali ai orofaringelui: streptococii orali și *Streptococcus pneumoniae*)

Clasificarea este utilă în identificarea principalelor specii implicate în patologia umană. Unele grupe serologice corespund unei singure specii (e.g., A,B,F), altele însă includ mai multe specii (e.g., C, D).

În raport cu patogenitatea streptococii pot fi clasificați în: streptococi piogeni (umani și animali) și streptococi condiționat sau accidentali patogeni.

9.1.1. *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes, singura specie a grupului A, este un patogen strict uman.

(1) **Habitat.** Găzduit pe mucoasa oro- sau nasofaringiană, frecvența purtătorilor variază între 5-20%, fiind mai crescută la școlari în condiții epidemiogene. Alte zone posibil colonizate: tegumentul, mucoasa vaginală, rectală.

(2) **Caractere microscopice.** În produse patologice apare coc sferic gram pozitiv așezat izolat, în perechi, lanțuri scurte (CD 9-3).

(3) **Caractere de cultivare.** Pe geloză-sânge de berbec sau cal formează, după 18 ore de incubare aerobă la 37°C, colonii mici (0,5 mm) înconjurată cu o zonă largă de β -hemoliză. Tulpinile capsulate formează colonii mucoide, rotunde, strălucitoare, fluide cu tendință la confluență. Aceste colonii prin liza acidului hialuronic capsular devin turtite, cu suprafața mamelonată și contur neregulat, *colonii matt*. Tulpinile necapsulate formează colonii mici, rotunde, opace, strălucitoare, *glossy* (CD 9-1 bis).

(4) **Rezistența la factorii de mediu.** La adăpost de lumină și la temperatura camerei supraviețuiește în secreții faringiene uscate câteva săptămâni, dar prin deshidratare pierde virulența. Mor în 30 minute la 54°C căldură umedă. Este sensibil la antisepticele și dezinfectantele uzuale.

(5) ,(6) **Structura antigenică și virulența.** Dintre streptococii piogeni, *Streptococcus pyogenes* posedă cel mai complet echipament de patogenitate. Distal de peptidoglican sunt dispuse în ordine următoarele structuri (fig.9-1):

- Polizaharidul C cu specificitate de grup A, care induce apariția anticorpilor citofili implicați în reacții imunologice încrucișate față de țesut conjunctiv și glicoproteine cardiace.

- Proteine M, MAP, T, R, *C_{5a}-peptidaza*, factorul de opacifiere serică

–Proteina M este ancorată în membrana citoplasmatică. Traversează peretele bacterian și se proiectează la suprafața bacteriei sub formă de filamente așezate perpendicular unde împreună cu acizii lipoteichoici alcătuiesc o formațiune în perie asemănătoare fimbriilor. Este principalul factor de virulență. Are structură fibrilară asemănătoare miozinei și proteinelor animale. Are specificitate antigenică de tip și este un bun marker epidemiologic (aproximativ 100 de tipuri M).

–Proteina asociată proteinei M (MAP) este un antigen cross-reactiv. Având înrudiri imunologice cu țesutul cardiac, este implicată în patogenia RAA și carditei reumatismale.

–Proteina T este numai marker epidemiologic, care diferențiază specia în serotipuri distincte de serotipurile M.

–Factorul de opacifiere serică (FOS) hidrolizează apoproteina A₁ din ser în două fragmente insolubile ce opacifiază serul, este marker epidemiologic.

- *Capsula de acid hialuronic* produsă de unele tulpini ~~bu~~ este imunogenă datorită înrudirii cu acidul hialuronic al gazdei. Este distrusă de hialuronidaza proprie.

- *Peptidoglicanul* are proprietăți imunogene, efect pirogen, induce leziuni cardiace granulomatoase este implicat în reacții inflamatorii.

- *Membrana citoplasmatică* are înrudiri antigenice și reacționează încrucișat cu sarcolema fibrelor miocardice, membrana bazală a glomerulului renal.

Antigenele de virulență pot fi grupate în: factori de colonizare, factori antifagocitari, factori de invazie, toxine citolitice, toxine eritrogene.

- *Factorii de colonizare* asigură aderența bacteriei la celulele gazdei

- *Acidul lipoteichoic* inserat în membrana citoplasmatică, traversează peptidoglicanul și ajunge pe suprafața celei bacteriene, interacționează cu grupările hidrofobe ale celulei gazdă

- *Proteina M* se atașează de receptori specifici celulari ai gazdei

- *Proteina F* se leagă de fibronectina celulelor gazdei.

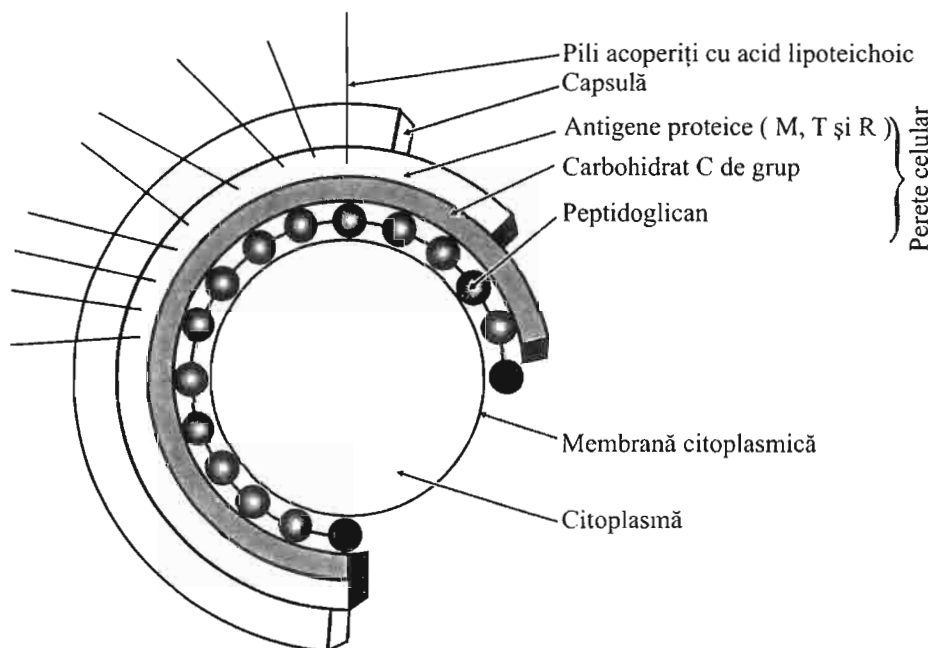


Fig. 9-1 Structura învelișurilor *Streptococcus pyogenes*

- *Factori antifagocitari*

- *Proteina M*, împiedică interacțiunea bacteriei cu celulele fagocitare prin mecanism fizic (repulsie electrostatică) și biochimic (blocarea căii alternative a complementului).

- *Capsula de acid hialuronic* are efect antifagocitar direct sau prin potențarea efectului proteinei M.

- *C_{5a} peptidaza* inhibă fagocitoza prin eliminarea efectului chemotactic al factorului C_{5a}.

- *Factori de invazie*

- *Streptokinaza* realizează conversia plasminogenului în plasmină, prevenind constituirea barierei de fibrină. Este imunogenă și produsă de streptococii de grup A,C,G. Preparate purificate pot fi administrate intravenos în tratamentul trombozelor venoase sau infarctului miocardic acut.

Streptococii și enterococii

–*Streptodornaza* (dezoxiribonucleaza) depolimerizează ADN-ul rezultat din distrugerea leucocitelor. Are 4 tipuri antigenice A, B, C, D, tipul B fiind în mod caracteristic produs în cantitate mare de *S. pyogenes*. Un amestec de streptokinază și streptodornază este folosit în scop terapeutic pentru lichefierea exsudatelor vâscoase (e.g., previne formarea aderențelor în cavitățile seroase inflamate).

–*Hialuronidaza* degradează acidul hialuronic din cimentul intercelular.

–Alte exoenzyme: *difosfopiridindinucleotidaza*, enzimă cu efect leucotoxic produsă de anumite serotipuri nefritogene de *S. pyogenes*, *neuraminidaza*, *proteinaze*, *esteraze*.

• Toxine citolitice

–*Streptolizina O*, oxigen labilă și antigenică, are efect litic față de celulele eucariote, inclusiv hematii, leucotoxică, cardiotoxică și letală după inoculare la animal.

–*Streptolizina S*, oxigen stabilă și neantigenică, cu efect citolitic și leucotoxic; este responsabilă de caracterul β -hemolitic al coloniilor pe geloză-sânge incubată aerob; un număr redus de tulpini nu produc streptolizina S, acestea cultivă în aerobioză sub forma coloniilor α -hemolitice, indistincte de ale streptococilor viridans. În anaerobioză sau la presiuni reduse ale oxigenului formează însă colonii β hemolitice.

• *Toxina eritrogenă* are trei variante antigenice: A (produsă de 80% dintre tulpini), B și C, care nu imunizează încrucișat. Tipurile A și C sunt produse prin conversie lizogenică. Sunt răspunzătoare de erupția din scarlatină. Are multiple efecte biologice: pirogen, antifagocitar, necrotic pentru țesut miocardic și hepatic, efect mitogen policlonal asupra limfocitelor T. Ocazional poate fi produsă de streptococi C, G.

(7) **Patogenitate naturală și patogenie.** *Streptococcus pyogenes* determină infecții acute (nespecifice și specifice) și boli poststreptococice (complicații nonsupurative tardive).

Infecții acute nespecifice:

Angina eritematoasă sau *eritemato-pultacee*, este cea mai frecventă formă de manifestare a infecției streptococice în zonele temperate. La copilul mare și adult se manifestă prin febră, disfagie, amigdale hipertrofice congestive, frecvent cu exsudat purulent în cripte. La copilul sub 3 ani evoluția este subacută, ca nasofaringită, manifestarea clinică dominantă fiind rinoreea.

Otite, sinuzite sau *adenite*. Din faringe infecția streptococică se propagă frecvent spre sinusurile paranasale, urechea medie, mai ales la copilul mic, și spre ganglionii limfatici laterocervicali.

Uneori tulpini virulente determină *flegmon amigdalian* și *celulita difuză a planșeului bucal* (angina Ludwig), *infecții invazive*, *bacteriemice* și *septicemice*. Propagarea spre căile respiratorii inferioare este rară și favorizată de evoluția concomitentă sau anterioară a unei viroze.

Impetigo („bube dulci”): piodermită foarte contagioasă, întâlnită mai ales la copii sub vârsta de 5 ani (CD 9-4). Unele serotipuri M sunt implicate cu precădere: 2, 49, 55, 57, 59, 61. Leziunile constau din vezicule situate pe o bază inflamatorie, care devin rapid pustule; prin rupere și deshidratare se acoperă cu o crustă melicerică, fiind pruriginoase dar nedureroase. Sunt localizate pe față și extremități. Fără tratament pot persista săptămâni sau luni. Este frecventă asocierea cu *Staphylococcus aureus*.

Infecții ale tegumentului lezat (înțepături, arsuri, plăgi traumatice sau operatorii) apar la toate vârstele ca infecții domiciliare sau iatrogene la persoane cu reactivitate antiinfecțioasă aparent normală. Pot evolua spre forme foarte severe, invazive, însoțite de limfangită cu adenită satelită și septicemie, punând în discuție prognosticul vital (celulite, fasciite necrozante, miozite).

Febră puerperală. Infecție iatrogenă deosebit de gravă la femeia parturientă, care a evoluat cu caracter epidemic la sfârșitul secolului XIX și începutul secolului XX. Introducerea

și respectarea măsurilor de asepsie și antisepsie, antibioterapia (sulfamide, penicilina) au condus la un declin important al acestor infecții; astăzi numărul de cazuri este foarte mic, dar frecvent cu evoluție mortală.

Vaginite. Poate determina vulvovaginite la fete. Infecțiile la acest nivel se însoțesc de portaj orofaringian.

Bacteriemii fără poartă de intrare identificată ca o consecință posibilă a unei translocări a *S. pyogenes* de la nivelul mucoasei faringiene.

Alte infecții invazive (foarte rare): pneumonii, endocardite cu evoluție supraacută, meningite, peritonite.

Infecții acute specifice:

Scarlatina. Infecție streptococică faringiană cu o tulpină eritrotogenică la o persoană care nu posedă anticorpi specifici antitoxici. Prin difuzarea pe cale sanguină a toxinei, la manifestarea clinică de angină se adaugă simptomatologia sistemică a bolii: exantem micropapulos eritematos cu paloare circumorală, enantem peteșial pe palatul moale sau dur, limbă zmeurie, fenomene de ordin general. Rar tulpini de streptococ grup C, G pot determina scarlatina.

Erizipelul. Dermo-epidermită edematoasă cu reacție inflamatorie bine reprezentată prin mecanism infecțios și alergic, însoțită de febră, stare toxică. Leziunea cutanată se prezintă ca un placard eritematos cu margini bine delimitate localizat la față, trunchi sau membre, cu tendința de extindere în suprafață. Fără tratament cu penicilină, prognosticul este grav. Poate recidiva. Evoluează mai ales la persoanele în vârstă.

Sindromul șocului toxic streptococic. Seamănă clinic cu șocul toxic stafilococic – febră, erupție tegumentară eritematoasă cu descumare tardivă, hipotensiune arterială, insuficiență multiorganică –, dar e depistat *S. pyogenes* în hemocultură consecutiv unei infecții cu potențial bacteriemic. În șocul toxic stafilococic doar toxina este evidențiată în sânge. Sunt implicate frecvent serotipurile M₁, M₃, M₁₂, M₂₈, producătoare de eritrotoxina A și/sau B.

Bolile poststreptococice: reumatismul articular acut (RAA), glomerulonefrita acută (GNA), coreea Sydenham, eritemul nodos, apar în infecțiile cu *S. pyogenes* prin sensibilizare la antigene streptococice și autoantigene.

Reumatismul articular acut (RAA) sau *febra reumatică* poate să apară după o infecție streptococică faringiană aparentă sau inaparentă, netratată, mai ales la copiii în vârstă de 6-15 ani, cu o frecvență care variază între 0,1-3%, fiind cunoscută predispoziția genetică. Evoluează cu febră, poliartrita migratorie nesupurativă, uneori asociindu-se semne clinice și ECG de endocardită, miocardita. Perivascular se dezvoltă mici granuloame (nóduli Aschoff) care generează țesut cicatriceal ce deformează valvele cardiace cu consecințe hemodinamice grave. O nouă infecție streptococică, aparentă sau inaparentă, agravează leziunile cardiace preexistente. Patogenia este complexă:

- Efectul toxic direct al streptolizinei O asupra cordului și articulațiilor. Absența RAA după infecții streptococice cutanate s-ar datora inhibării prin sebum a activității toxice a streptolizinei O.

- Mecanisme autoimune umorale sau celulare prin reacții de sensibilizare de tip I, II, III și IV. Țesutul valvular cardiac are determinanți antigenici comuni cu polizaharidul de grup A iar sarcolemma fibrelor miocardice cu proteine și glicoproteine din membrana citoplasmatică streptococică.

Tulpinile reumatogene de *S. pyogenes* au următoarele caracteristici: aparțin unui număr limitat de tipuri M, M₁, M₃, M₅, M₆, M₁₂, M₁₄, M₁₈, M₁₉, M₂₄, M₂₉, au afinitate pentru mucoasa faringiană, sunt bogate în proteina M, sunt lipsite de FOS, au epitopi comuni cu țesutul cardiac.

Glomerulonefrita acută. Poate să apară după o infecție cu tulpini nefritogene de *S. pyogenes*, după infecții faringiene cu serotipurile M1, M3, M4, M25 sau cutanate cu serotipurile M49, M2, M55, M59, M60, M61, recidivele sunt excepționale. Bolnavii au hematurie, proteinurie, retenție azotată, hipertensiune arterială ca urmare a necrozei glomerulilor renali printr-o reacție de sensibilizare de tip III: complexe imune cu fixare de complement, ce se depun la nivelul glomerulilor renali.

(8) Imunitatea. Anticorpilor protectori, anti-proteina M, au specificitate de tip și efect opsonizant. Apar tardiv, titrul lor crește lent dar persistă toată viața. Anticorpilor anti-eritrotoxină protejează față de eritemul scarlatinos. Pacienții ce posedă anticorpi anti-eritrotoxină nu mai fac scarlatină, dar pot face angine cu diferite tipuri M producătoare de eritrotoxină, dacă nu sunt imunizați față de tipul M respectiv, și reprezintă sursă de infecție pentru scarlatină.

Anticorpilor anti-MAP, anti-polizaharid C sau față de antigene extracelulare (anti-SLO, anti-DNAaza B, anti-hialuronidaza, anti-streptokinaza, anti-streptodornaza) nu au rol protector, dar prezența lor este cercetată ca marker al unei infecții streptococice recente la pacienții cu suspiciunea diagnostică RAA și GNA.

(9) Diagnosticul de laborator Produsele patologice în care urmărim prezența *S. pyogenes* variază în raport cu tipul de infecție.

Microscopia directă este utilă în cazul prelevatelor din zone normal sterile, dar au valoare limitată în cazul celor ce provin din zone colonizate. Permite evidențierea în frotiu a cociilor sferici Gram pozitivi, în diplo sau scurte lanțuri (CD 9-5).

Izolarea o realizăm prin însămânțarea pe plăci de geloză cu 5% sânge de berbec incubate aerob 24-48 ore la 37°C. Când este posibil putem recurge la incubarea în anaerobioză care crește sensibilitatea depistării.

Pentru produsele care provin din zone colonizate preferăm mediile selective: geloză-sânge adăugat cu clorură de sodiu, trimetoprim-sulfametoxazol sau azid de sodiu și cristal violet.

Identificarea o realizăm pe baza caracterelor de cultivare și microscopice.

Testul de sensibilitate la bacitracină diferențiază prezumtiv *S. pyogenes* (sensibil) de alți streptococi beta-hemolitici (rezistenți). Testul identifică însă eronat cca 1% din tulpinile de grup A (*S. pyogenes*) și 5-10% din cele non-grup A. Specificitatea testului de sensibilitate la bacitracină crește când este testată concomitent și sensibilitatea la asociația sulfametoxazol-trimetoprim față de care *S. pyogenes* este rezistent (CD 9-6, 9-7).

Identificarea definitivă constă în evidențierea polizaharidului cu specificitate de grup A prin reacții de precipitare, latexaglutinare sau coaglutinare, după extracția antigenică prin diferite metode (e.g., extracție în mediul acid, la 100°C).

Diagnosticul serologic este doar criteriu pentru confirmarea suspiciunii clinice de RAA sau GNA. Constă în determinarea titrului anticorpilor față de exoenzime streptococice (SLO, DNAaza B, etc), polizaharidul C cu specificitate pentru grupul A, MAP.

Dozarea anticorpilor neutralizanți anti-SLO (ASLO) este cel mai bine standardizată. Depistarea în zona temperată a unui titru ASLO peste 200 U/mL demonstrează infecția streptococică recentă și este numai unul din criteriile secundare de diagnostic al RAA. Nu toți pacienții cu titrul peste 200 U/mL au RAA și doar 80% dintre pacienții cu RAA au titrul ASLO peste 200 U/mL (corespunzător proporției tulpinilor producătoare de SLO). Titrarea concomitentă a antistreptodornazei B (titru semnificativ ≥ 240 U/mL) și a streptokinazei (titru semnificativ peste 160 U/mL) crește spre 1,0 sensibilitatea depistării infecției streptococice premergătoare puseului de RAA. Rezultate fals pozitive pot să apară după infecții cu streptococi de grup C sau G.

(10) Elemente de terapie etiotropă. *Streptococcus pyogenes* este deosebit de sensibil la penicilină (CMI 0,002-0,05 µg/mL), care reprezintă antibioticul de elecție folosit în tratamentul infecțiilor streptococice. Antibiotograma nu este necesară, deoarece nu au fost semnalate tulpini cu sensibilitatea modificată la acest antibiotic. Pacienții sensibilizați la penicilină sunt tratați cu eritromicină, claritromicină sau azitromicină, dar sub controlul antibiogrammei. Mai pot fi utilizate clindamicina, cefalosporine orale din generația I sau II.

Persistența *S. pyogenes* în exsudatul faringian după 10 zile de penicilinoterapie (risc pentru boală poststreptococică) poate avea mai multe explicații:

- administrare incorectă a antibioticului (nu sunt realizate concentrații tisulare active);
- recontaminarea de la purtători din anturaj;
- inactivarea *in situ* a penicilinei prin β-lactamaze produse de bacterii prezente în flora faringiană (*S. aureus*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, anaerobi);
- tulpini tolerante la penicilină.

(11) Epidemiologie. Omul este singurul rezervor pentru *S. pyogenes*. Surse de infecție sunt bolnavii sau purtătorii sănătoși, cei nasali sunt mai rari, dar mai periculoși decât cei faringieni. La copii portajul este de 5-20%, dar în perioade epidemice în colectivitățile de copii poate ajunge până la 70%. Infecțiile perinatale sunt explicate prin portajul vaginal.

Transmiterea se face prin picături Flügge, salivă, contact cu leziunile cutanate (persoanele cu leziuni impetiginizate ale scalpului constituie surse periculoase). Au fost citate angine după consum de alimente contaminate.

Infecțiile sunt excepționale sub vârsta de 2 ani, perioadă în care evoluează atipic, subacut, prin lipsa anticorpilor specifici (ASLO etc.).

RAA și GNA survin cu frecvență crescută în țările subdezvoltate, fiind rare în lumea civilizată.

Receptivitatea la infecție este generală și legată de absența anticorpilor anti-proteină M cu specificitate de tip.

(12) Profilaxie. Profilaxia infecțiilor acute este realizată prin măsuri nespecifice. În cazul unui episod epidemic se administrează la toți membrii colectivității respective o doză de penicilina G urmată de benzatinpenicilină.

Vaccinul anti-*S. pyogenes* este încă în studiu. Dificultățile de obținere sunt legate de multitudinea serotipurilor M și de apariția reacțiilor de sensibilizare după administrarea de bacterii omorâte, extracte celulare sau preparate de proteina M.

Profilaxia complicațiilor poststreptococice, presupune:

- profilaxia primară realizată prin tratamentul corect al infecțiilor acute (asigurarea timp de 10 zile a concentrației active serice de penicilina G sau V).
- profilaxia secundară a unui nou puseu de RAA constă în administrarea la acești bolnavi de benzatinpenicilină la interval de 3 săptămâni până la vârsta de 30 ani (depășirea perioadei de receptivitate maximă). După GNA pacienții nu primesc chimioprofilaxie, recidivele fiind foarte rare.

9.1.2. Streptococii de grup C și G

Grupul C include *Streptococcus equi* subsp. *equi*, subsp. *zooepidemicus*, *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*, subsp. *equisimilis*. Grupul G are o singură specie: *Streptococcus canis*.

Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis* are habitat uman, iar *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* și *Streptococcus canis* sunt cu habitat animal și uman. Au caractere microscopice, de cultivare, factori de virulență, patogenitate asemănătoare cu *S. pyogenes*. Dar, spre deosebire de acesta pot fi sensibili și la bacitracină și la sulfametoxazol-trimetoprim.

Streptococii și enterococii

Produc ocazional eritrotoxină, foarte rar scarlatină și sindromul șocului toxic și nu produc complicații poststreptococice. Numai *S. zooepidemicus* poate determina GNA după consumul de lapte nepasteurizat provenit de la vaci cu mamită streptococică. Ca și streptococul de grup A, streptococii grupelor C și G sunt foarte sensibili la penicilina G.

9.1.3. Streptococii de grup D

Trei specii de streptococi grup D, *S. bovis*, *S. equinus* și *S. suis*, sunt găzduiți în microbiota intestinală a animalelor. Interes medical prezintă numai *S. bovis* și *S. suis*, specii condiționat patogene, ocazional găzduite și de om. *Streptococcus bovis* este responsabil de cca 10% din septicemiile sau endocarditele pacienților suferinzi de leziuni ale colonului (cancer, paradiverticulită). *Streptococcus suis*, responsabil de boli severe ale animalelor, determină rar la om septicemii și meningite cu caracter profesional ale lucrătorilor din abatoare. Amino- și ureidopenicilinele sunt mai active decât penicilina G asupra streptococilor grup D, dar numai cu efect bacteriostatic. Pentru terapia endocarditelor este indicată asociația ampicilină + un aminoglicozid, numai după testarea asocierii in vitro.

9.1.4. Streptococul de grup B

Streptococcus agalactiae este un streptococ piogen animal, ce determină mastita bovideelor, ocazional găzduit de om în vagin, intestin, orofaringe.

Microscopic este asemănător streptococului de grup A. Cultivă pe geloză-sânge sub forma coloniilor translucide, mari (1-2 mm), înconjurată de o zonă îngustă de hemoliză incompletă. Pot fi tulpini α sau nehemolitice.

Antigenul capsular diferențiază mai multe tipuri: Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII și stimulează apariția anticorpilor protectori.

Factor esențial de virulență, capsula polizaharidică este antifagocitară. Serotipul III predomină în infecțiile neonatale, fiind excesiv de virulent prin conținutul său în acid sialic.

Proteina B sau **factorul CAMP** (Christie, Atkins, Munch-Petersen) este o exoproteină care completează liza eritrocitelor de oaie expuse β -lizinei stafilococice (*S. aureus*) sau α -lizinei *Clostridium perfringens* (CD 9-8). Are capacitatea de a lega fragmentul Fc al Ig G și Ig M cu efect antifagocitar.

Hemolizina este considerată factor de virulență deși, pe model experimental de șoarece nou-născut nu a fost confirmat.

Alți factori de virulență: *C_{5a} peptidaza*, *proteine M-like*, *hialuronidaza*.

Streptococul de grup B poate determina infecții neonatale (precoce și tardive) și infecții la adult.

Infecțiile precoce ale nou-născutului (0-5 zi de viață). Prematurii și nou-născuții mamelor cu complicații obstetricale prezintă risc major pentru aceste infecții. Contaminarea poate avea loc *in utero* (în caz de ruptură precoce a membranelor, la gravide colonizate vaginal cu streptococ de grup B) sau în timpul travaliului când fătul traversează canalul de naștere colonizat cu streptococ grup B. Se manifestă ca infecții pulmonare grave cu detresă respiratorie și evoluție septicemică, de cele mai multe ori mortală. Implicate sunt serotipurile Ia, Ib, II, III.

Infecțiile tardive (1 săptămână-3 luni) Sunt transmise de la personalul de îngrijire sau membrii familiei și evoluează frecvent ca meningită purulentă cu implicarea serotipului III.

Infecțiile adultului La diabetici, vârstnici poate determina infecții urinare, endocardite infecțioase, meningite, celule. La femeia gravidă peripartum poate induce endometrită febrilă cu diseminare sanguină și localizări meningiene sau pericardice.

La nou-născutul bolnav depistăm în sânge, nasofaringe sau meconiu și la mamă în vagin același serotip de streptococ grup B.

La nou-născutul peste 5 zile și la adult conduita diagnostică este dictată de tipul infecției.

Streptococcus agalactiae este sensibil la penicilină, dar CMI este de 10X mai mare decât pentru *S. pyogenes*. Aminopenicilinele sunt mai active, de aceea este utilizată frecvent asocierea aminopenicilină + aminoglicozid.

Deși *S. agalactiae* este prezent și la animale **sursa de infecție** este umană. Portajul vaginal este de 1-40% și nu este influențat de sarcină. Portajul orofaringian este de cca 12%. Aproximativ 50-70% din nou născuții gravidelor cu vaginul colonizat cu streptococi grup B devin la rândul lor colonizați de această bacterie.

Transmiterea poate fi realizată vertical (*in utero*, prin traversarea canalului de naștere) sau orizontal (personal de îngrijire, familie, la adult poate fi implicat și contactul sexual).

Factori de risc, în condițiile colonizării vaginale, sunt: prematuritatea (transferul de anticorpi materni mult diminuat), starea febrilă a mamei în timpul travaliului, nașterile laborioase.

Profilaxia infecției perinatale la gravidele cu vaginul colonizat de streptococ grup B, poate fi făcută prin: vaccinare în cursul sarcinii cu vaccin polizaharidic capsular, perfuzie de ampicilină în cursul travaliului sau administrarea ampicilinei la nou-născut în primele ore de la naștere.

9.1.5. *Streptococcus pneumoniae*

(1) **Habitat.** Pneumococii sunt găzduiți pe mucoasa tractusului respirator superior. Rata purtătorilor nasofaringieni este de 50-70%. Poate coloniza mucoasa genito-urinară sau intestinală.

(2) **Caractere microscopice.** Sunt coci gram-pozitivi ovali, lanceolați sau în flacără de lumânare, așezați în perechi, cu axul longitudinal în prelungire, privindu-se prin extremitățile bombate, se pot dispune în scurte lanțuri. Pe frotiurile din produs patologic sau cultură pe medii îmbogățite poate fi evidențiată capsula polizaharidică prin colorația Gram, albastru de metilen sau tuș de India. Este mai vizibilă în prezența antiserului omolog de tip, metoda numită „umflarea capsulei”.

(3) **Caractere de cultivare.** Cultivă pe medii îmbogățite cu sânge, ser, lichid de ascită sau glucoză. Sunt carboxifili. La 37°C cultura apare în 18-24 ore. Pe geloză-sânge formează colonii S, cu diametrul de 1 mm, înconjurate de o zonă de α -hemoliză (CD 9-9), ce pot fi confundate cu cele produse de streptococii orali. Tulpinile care sintetizează capsulă în cantitate mare formează colonii mucoide, care, după 18-24 de ore suferă în centru o deprimare căpătând aspect crateriform din cauza autolizei (CD 9-10). Tulpinile necapsulate formează colonii R.

(4) **Rezistența în mediul extern.** Pneumococii sunt bacterii fragile: mor repede în condiții de uscăciune, la temperatura camerei, după expunere la lumină.

(5) **Structura antigenică.** Polizaharidul C (substanța C conține acid teichoic) are specificitate de specie și este analog, dar *antigenic distinct* de polizaharidul de grup *Lancefield*. Poate precipita proteina C reactivă, prezentă în ser în concentrații crescute în infecții acute, și activa astfel complementul.

Antigenul capsular polizaharidic permite clasificarea în aproximativ 90 de tipuri. Este identificat prin reacția de umflare a capsulei în scop epidemiologic (prepararea de vaccinuri).

Streptococii și enterococii

Proteina M, proteină de suprafață, distinctă de proteina M a *S. pyogenes*, are specificitate de tip independentă de a polizaharidului capsular.

(6) Factori de virulență. *Capsula polizaharidică*, factor major de virulență prin efectul antifagocitar. Tulpinile care o sintetizează în cantitate mare sunt cele mai virulente (serotipul 3).

Pneumolizina eliberată prin autoliză este asemănătoare SLO aparținând familiei de toxine tiol activate ce-și pierde activitatea prin oxidare. Are efect hemolitic, leucolitic și dermonecrotic. Este ireversibil inactivată de colesterol și este imunogenă pe perioada infecției.

IgA₁ proteaza este o endopeptidază ce clivează IgA₁. O enzimă cu acțiune similară produce *Streptococcus mitis*, *S. sanguis*, *H. influenzae*, meningococul, gonococul.

Alți factori de virulență: *hialuronidaza*, *neuraminidaza*, *C_{5a} peptidaza*.

(7) Patogenitatea naturală și patogenie. Pneumococul este o bacterie condiționat patogenă. Riscul infecției apare la purtătorii nasofaringieni de tulpini capsulate (infecții endogene) sau la persoane expuse contaminării cu asemenea tulpini (infecții exogene) în condiții de alterare a transportului muco-ciliar.

Infecțiile pneumococice pot fi grupate în: infecții acute ale tractusului respirator inferior (bronșite, pneumonii), infecții ale cavităților conectate tractusului respirator superior (sinuzite, otite medii acute, mastoidite), alte infecții (meningite, endocardite, peritonite, artrite septică, conjunctivite purulente, infecții peripartum și la nou-născut).

Pneumonia pneumococică, forma clinico-radiologică cea mai frecventă la adult, are incidența maximă în sezonul rece în strânsă legătură cu virozele respiratorii. Cel mai frecvent este interesat un singur lob, dar pot fi afectați 2 și chiar 3 lobi. Pacientul prezintă: frison, febră, tuse cu expectorație ruginie, junghi toracici (datorită leziunii pulmonare periferice cu interesarea pleurei) și semne ale acumulării intraalveolare de exsudat: stetacustice (raluri fine crepitante și subcrepitante, eventual frecături pleurale) și radiologice. Infecția se extinde la ganglionii limfatici mediastinali de unde determină descărcări bacteriemice (depistate la aproximativ 30% din pacienți în primele zile de boală) sau, pe cale limfatică retrogradă, invadează pleura (pleurezii). Evoluția bacteriemică este frecventă la pacienții vârstnici, cu boli cronice, splenectomizați, cu anemie falciformă. Dată fiind cantitatea importantă de polizaharid pneumococic antrenată în circulație, la unii pacienți pneumonici este posibilă apariția unei glomerulonefrite acute prin mecanism de sensibilizare de tip III cu complexe imune circulante.

La copil, pneumococii determină aproximativ jumătate din cazurile de otită medie acută și este printre primii 3 agenți etiologici ai meningitei purulente, ce apare ca localizare metastatică în cursul bacteriemiei pneumococice sau prin propagarea infecției din focarul otomastoidian.

Endocardita pneumococică poate surveni ca urmare a înșămânțării în cursul bacteriemiei a valvelor cardiace normale sau anterior afectate. Interesează cu predilecție valva aortică.

Peritonita pneumococică apare la pacienți cu ascită (ciroză, sindrom nefrotic) sau la copii, la fete mai ales, ca peritonită primitivă.

(8) Imunitatea antipneumococică este specifică de tip și asigurată de anticorpi opsonizanți anticapsulari.

(9) Diagnostic de laborator al infecțiilor pneumococice este bazat pe depistarea bacteriei sau antigenului polizaharidic capsular. Prelevatele examinate sunt funcție de localizarea infecției: puroi otic, LCR, sânge, exsudat pleural, puroi peritoneal. Rețineți că hemoculturile sunt frecvent pozitive în cazul pneumoniilor și meningitelor pneumococice.

Microscopia directă este foarte importantă date fiind caracterele morfotinctoriale care individualizează pneumococii: diplococi ovali, gram pozitivi, capsulați (CD 9-12).

Izolarea pneumococilor o facem uzual pe geloză-sânge după 24 ore de incubare la 37°C, în atmosferă cu 5-10% CO₂. Dată fiind fragilitatea acestei bacterii, esențială este înșămânțarea prelevatelor cât mai precoce posibil, fără refrigerare.

Identificarea izolatelor o facem pe baza caracterelor de cultivare și microscopice, a sensibilității la optochin, solubilității în bilă și patogenității pentru șoarece. Pneumococii sunt sensibili la optochin (CD 9-15), se autolizează în bilă, cu clarificarea suspensiei și sunt patogeni pentru șoareci (cu excepția serotipului 19).

Rezultatele sunt ușor de interpretat în cazul prelevatelor necontaminate. În expectorații căutăm și examinăm câmpuri microscopice reprezentative pentru focarul infecțios bronșic sau pulmonar (abundența fibrinei, a macrofagelor alveolare și polimorfonuclearelor și absența celulelor epiteliale scuamoase de contaminare orofaringiană). Pe asemenea câmpuri, semnificație clinică are asocierea a cel puțin 10 diplococi ovali, gram pozitivi, capsulați cu celulele inflamatorii și fibrina (CD 9-11,12,13,14). Frecvent izolarea pneumococilor din spută eșuează din cauza antagonismului contaminanților orofaringieni. Izolarea a peste 10⁶ UFC pneumococi/mL spută este semnificativă clinic.

Poliozidul capsular pneumococic îl urmărim la bolnavi pneumonici în serul sanguin și urină, prin latexaglutinare sau coaglutinare (CD 9-16).

(10) Elemente de terapie etiotropă. Până în 1967 penicilina a fost antibioticul de elecție, moment în care au fost semnalate tulpini cu rezistență joasă la penicilină (CMI 0,1-1 μg/mL), iar din 1977-1978 tulpini cu rezistență înaltă (CMI > 2 μg/mL) rezistente și la alte antibiotice (macrolide, sulfametoxazol-trimetoprim, cloramfenicol, rifampicina). Conduita terapeutică o stabilim prin antibiogramă. Sensibilitatea la penicilină o testăm cu discuri de oxacilină (1 μg): tulpinile care dau o zonă de inhibiție ≥ 20 mm sunt sensibile la penicilină, cele cu zona ≤ 19 mm sunt rezistente și pentru ele determinăm CMI. La o CMI 0,1-1 μg/mL tulpina are rezistență de nivel jos, iar la CMI >1 μg/mL rezistență înaltă. În infecțiile pulmonare determinate de tulpini cu rezistență joasă putem administra penicilină în doze mari. Pentru tulpinile cu rezistență înaltă nu utilizăm penicilina, ele au 2 particularități: se asociază cu multirezistența la antibiotice și aparțin anumitor serotipuri capsulare (6, 9, 14, 19, 23) a căror circulație poate fi limitată prin vaccinare. Infecțiile cu asemenea tulpini pot fi tratate cu cefalosporine de a II-a generație, cefuroxima sau a III-a, ceftriaxona, cefotaxima, carbapeneme, glicopeptide.

(11) Epidemiologie. Obişnuit infecțiile pneumococice evoluează endemic. În colectivități închise pneumonia poate evolua epidemic paralelizând o epidemie de gripă. Principala sursă de infecție nu este bolnavul cu pneumonie, ci purtătorii sănătoși de tulpini virulente. Vaccinarea este indicată electiv la pacienții cu risc crescut pentru infecții pneumococice grave (vârstnici, diabetici, bronșitici cronici etc.). În prezent sunt comercializate vaccinuri care includ 14 sau 23 de antigene capsulare ce corespund serotipurilor cel mai frecvent izolate din infecții într-un teritoriu. Vaccinurile eficiente la copii sub vârsta 2 ani conțin antigene capsulare cuplate cu o proteină purtătoare (proteină din membrana externă a meningococului).

9.1.6. Streptococii viridans (orali)

Streptococii viridans reunesc mai multe specii încadrate în grupele filogenetice **anginosus, mitis, mutans, salivarius** și individualizate prin caracterele fiziologice și biochimice. Denumirea de viridans vine de la caracterul α-hemolitic al coloniilor, iar, cea de streptococi orali, de la colonizarea mucoasei faringiene, a cavității orale, deși colonizează și intestinul, tractul genito-urinar, conjunctiva, tegumentul.

Streptococii și enterococii

Importanța medicală:

- Implicarea în cariogeneză (☞ Subcapitolul 6.2.3.3);

- Sunt principalii agenți etiologici ai endocarditelor infecțioase. Această infecție apare la pacienți cu leziuni valvulare cardiace ca urmare a fixării în trombi valvulari de bacterii accidental patogene (streptococi viridans, enterococi, *S. epidermidis* etc) în cursul unor bacteriemii. În profunzimea depozitelor fibrinoplachetare valvulare aceste bacterii se multiplică la adăpost de factorii antimicrobieni ai sângelui și determină leziuni vegetante generatoare de descărcări bacteriemice și embolii. Streptococii aderă la endoteliul valvular prin asocierea acidului lipoteichoic cu fibronectina celulei gazdă. Odată colonizarea realizată, dextranul streptococilor oferă nutrienți și protecție față de acțiunea antibioticelor. Cauze de bacteriemii cu streptococi viridans și enterococi sunt infecții periodontale, extracții dentare, intervenții chirurgicale în sfera buco-maxilo-facială, ORL sau ginecologică. La pacienții cu valvulopatii cardiace intervențiile chirurgicale pe mucoase sau cele stomatologice sub protecția unui antibiotic (ampicilina 2 g înaintea intervenției, 1,5 g la 30 minute după acesta) reduc semnificativ riscul endocarditei fără a-l elimina complet.

- Mai pot determina bacteriemii și septicemii la cei aflați sub terapie anticanceroasă; meningite după puncții rahidiene (mai ales pentru injectarea substanțelor de contrast radiologic).

9.2. GENUL *ENTEROCOCCUS*

Genul *Enterococcus* a fost individualizat pe baza criteriilor moleculare, din grupul Lancefield D al streptococilor. Cuprinde 19 specii dintre care 3 sunt frecvent întâlnite la om: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*.

Habitează mucoasa intestinală, genito-urinară, ocazional faringele.

Sunt coci ovali, gram-pozitivi, așezați în diplo și scurte lanțuri. Facultativ anaerobi, catalază-negativi. Puțin exigenți nutritiv, cultivă optim la 35-37°C (limite 10-45°C). Pe geloză-sânge formează colonii α -, β -, sau nehemolitice, în funcție de specia animalului de la care provine sângele. Se deosebesc de streptococii de grup D prin teste biochimice și prin capacitatea de a cultiva în bulion cu 6,5% NaCl.

Enterococii sunt bacterii condiționat patogene. Determină:

- Singuri: infecții urinare, comunitare sau nosocomiale, endocardite infecțioase, meningite

- În asociere cu enterobacteriacee și bacterii anaerobe: peritonite, infecții biliare, abcese hepatice, infecții ale plăgilor chirurgicale sau ale ulcerelor de decubit.

Penicilinele de biosinteză au efect bacteriostatic asupra enterococilor. Aminopenicilinele și ureidopenicilinele sunt mai active decât penicilinele de biosinteză. Enterococii sunt natural rezistenți la cefalosporine, sulfamide, lincosamide, sinergistine. Față de aminoglicozide prezintă rezistență de nivel jos, dar au dobândit rezistență de nivel înalt. În endocardite este indicată asocierea aminopeniciline + aminoglicozide, dacă tulpina e sensibilă la penicilină și nu prezintă rezistență de nivel înalt la aminoglicozide. În infecțiile urinare administrăm nitrofurantoin, fluoroquinolone.

Rezistența la penicilină poate fi explicată prin 2 mecanisme: producerea de β -lactamază, modificarea afinității PLP₅. Pentru tulpinile rezistente la penicilină folosim glicopeptide. Există însă tulpini cu rezistență câștigată la glicopeptide, 2 fenotipuri: *vanA*, rezistente la vancomicină și teicoplanină; *vanB*, rezistente la vancomicină. Alternativa terapeutică în acest caz este dalfopristină + quinupristină.

OLIVIA DORNEANU

„Și au lovit ei pe Madian, cum poruncise Domnul lui Moise, și au ucis pe toți cei de parte bărbătească. Atunci s-a mâniat Moise pe căpeteniile oștirii și le-a zis Moise: ...toate femeile care au cunoscut bărbat, uci-deți-le. Iar pe fetele care n-au cunoscut bărbat, lăsați-le pe toate vii pentru voi.”

MOISE, NUMERII 31:7,14,17,18

„În Anglia și în Țara Galilor, sfârșitul celor două războaie mondiale a fost însoțit de creșterea dramatică a morbidității prin gonoree. Aceasta a scăzut rapid la nivelele antebelice, dar după Al Doilea Război Mondial a crescut continuu și susținut până a depășit valoarea maximă postbelică... Aceasta a rezultat din schimbări majore sociale care au avut loc în acest timp...marea emancipare cu consecințe îndoielnice și respingerea frecventă a valorilor tradiționale și schimbarea de atitudine față de homosexuali și relațiile sexuale extramaritale...recunoașterea emergenței epidemiei de SIDA a silit la schimbări importante în practica sexuală (campanii publicitare care au încurajat utilizarea prezervativelor). Acestea au fost extrem de eficiente în țările occidentale.”

A E JEPHCOTT, 1998

10.1. GENUL NEISSERIA

Genul *Neisseria* a fost numit după medicul german A.L.S. Neisser, cel care a descris pentru prima dată microorganismul care produce gonoreea.

Minidefiniție. Neisseriile sunt diplococi cu fețele adiacente aplatizate (aspectul boabelor de cafea). Excepție face *N. elongata* cu aspectul său de bacili fini, scurți, dispuși în perechi sau scurte lanțuri. Imobili, gram-negativi, au tendință de a rezista la decolorare. Strict aerobe, cultivă optim la 35-37°C. Sunt oxidazo- și catalazo-pozitivi. Neisseriile pot fi grupate în raport cu anumite caracteristici, e.g., exigențele nutritive (neisserii pretențioase *versus* nepretențioase), pigmentogeneza (neisserii care produc pigment galben-verzui *versus* neisserii nepigmentogene).

Din cele 10 specii cu habitat uman ale genului, sunt strict patogene două, *N. meningitidis* (meningococul) și *N. gonorrhoeae* (gonococul); celelalte fac parte din microbiota indigenă a mucoasei orofaringiene, urogenitale și conjunctivale ocazional anogenitală, au virulență limitată și în general produc infecții doar la gazda imunocompromisă.

În prelevate patologice speciile patogene apar predominant intracelular, în citoplasma fagocitelor.

- *Neisseriile pretențioase nutritiv*, *N. meningitidis* și *N. gonorrhoeae*, cultivă la 37°C, în atmosferă cu 5-10% CO₂, pe medii îmbogățite (cu hemină, extract de levură, autolizat de ficat ș.a.) cum sunt mediile HYL ori Thayer-Martin. Meningococii, mai puțin pretențioși decât gonococii, pot cultiva și pe geloză-sânge.

- *Neiseriile nepretențioase nutritiv* cultivă pe medii simple (geloză-nutritivă) la 37°C; pe medii îmbogățite cultivă la temperatura camerei.

Diferențierea speciilor de *Neisseria* o facem prin activitățile lor biochimice.

10.1.1. *Neisseria gonorrhoeae*

(1) **Habitat.** Omul este singura gazdă naturală. Gonococul poate coloniza mucoasa uretrală, endocolul uterin, mucoasa faringiană. Prezența gonococului pe mucoase nu este interpretată niciodată ca stare de purtător, ci ca infecție asimptomatică, pentru că există riscul de apariție a complicațiilor ascendente sau de tip bacteriemic.

(2) **Caractere microscopice** sunt tipice ale genului.

(3) **Caractere de cultivare.** *Neisseria gonorrhoeae* este pretențioasă nutritiv; necesită medii complexe de cultură și este influențată negativ de uscăciune și prezența acizilor grași. În mediile fără sânge, amidon solubil este adăugat mediilor de cultură pentru a neutraliza efectul toxic al acizilor grași. Temperatura optimă de cultivare este 35-37°C. O atmosferă umedă suplimentată cu CO₂ este necesară creșterii. În primocultură: coloniile gonococilor sunt mici, S, strălucitoare, translucide.

(4) **Rezistența în mediul extern.** Bacterie fragilă, sensibilă la temperaturi joase și uscăciune, adaptată la transmiterea intimă, sexuală.

(5) **Structura antigenică.** Variația antigenică a porinelor membranei externe permite diferențierea gonococilor în 16 serotipuri.

(6) **Factori de virulență.** Factorii de virulență ai gonococului și acțiunile lor biologice sunt redată în tabelul 10-1.

Structura *N. gonorrhoeae* este cea tipică pentru o bacterie gram-negativă. Suprafața externă nu este acoperită de o capsulă adevărată (ca la meningococ), dar are încărcătura negativă conferită de aceasta. Izolatele clinice proaspete au pili, constituiți din subunități proteice repetate (pilină). Expresia pililor este asociată cu virulența. Pilina are o regiune constantă la capătul amino-terminal și o regiune hipervariabilă la capătul carboxi-terminal. Lipsa imunității la reinfecția cu *N. gonorrhoeae* se datorează parțial variației antigenice a pilinei și parțial variației de fază în expresia pilinei.

Tabelul 10-1 Factorii de virulență ai *Neisseria gonorrhoeae*

Factorul de virulență	Efectul biologic
Pilina	Proteină care mediază atașarea inițială la epiteliul mucoaselor umane (e.g., epiteliul vaginal, al trompelor uterine, cavitatea orală); interferează efectul ucigaș al neutrofilelor.
Proteina Por (proteina I)	Porină – promovează supraviețuirea intracelulară prin împiedicarea fuziunii fagolizozomilor în neutrofile.
Proteina Opa (proteina II)	Proteina de opacitate – mediază atașarea fermă la celulele eucariote.
Proteina Rmp (proteina III)	Proteina modificabilă prin reducere – protejează alte antigene de suprafață (proteina Por, LOS) de acțiunea bactericidă a anticorpilor.
Proteine de legare a transferinei	Mediază achiziționarea de fier pentru metabolismul bacterian.
Proteine de legare a lactoferinei	Mediază achiziționarea de fier pentru metabolismul bacterian.
Proteine de legare a hemoglobinei	Mediază achiziționarea de fier pentru metabolismul bacterian.
LOS	Lipooligozaharid – are activitate de endotoxină.
Proteaza IgA ₁	Distruge imunoglobulina A ₁ (rolul în virulență este necunoscut).

Alte clase de proteine sunt prezente în membrana externă. Proteinele Por, PorA și PorB (proteine I), sunt porine care formează canale în membrana externă. Tulpinile care exprimă proteine PorA sunt rezistente la activitatea bactericidă a serului și deci mai frecvent asociate cu infecția diseminată.

Bacteriile care exprimă proteine Opa (proteine II) apar opace *versus* transparente în cultură. Proteinele Rmp (proteine III) stimulează producerea de anticorpi care blochează activitatea bactericidă a serului împotriva *N. gonorrhoeae*.

Lipooligozaharidul (LOS) similar lipopolizaharidului (LPS) bacteriilor gram-negative acționează ca endotoxină; nu are diversitatea antigenică specifică a antigenului O al LPS.

(7) Patogenitate naturală și patogenie. Gonococii se atașează de celulele mucoasei genitale, penetrează în celule și se multiplică și apoi traversează celulele spre spațiul subepitelial, unde stabilesc infecția. Prezența pililor este importantă pentru atașarea inițială; celulele fără pili sunt avirulente; proteina Opa mediază o alipire strânsă la suprafața celulei gazdă și apoi migrarea bacteriilor în celula epitelială. Proteina Por protejează bacteriile fagocitate de omorârea intracelulară prin inhibarea formării fagolizosomului. LOS stimulează răspunsul inflamator și eliberarea TNF- α , care produce majoritatea simptomelor asociate cu infecția gonococică.

Infecția gonococică are variate **tablouri clinice**: infecții genitale la bărbat și la femeie, infecții diseminate, alte boli.

Infecții genitale (gonoreea, blenoragia) la bărbat se manifestă ca uretrită acută (scurgere uretrală purulentă și disurie apărute după o incubatie de 2–5 zile) la aproximativ 95%. Deși complicațiile sunt rare, de tip epididimită, prostatită și abcese periuretrale.

La femei infecția gonococică se localizează de predilecție la nivelul endocolului, dar poate să intereseze și mucoasa uretrală, glandele Skene sau glandele Bartholin. Gonococii nu infectează celulele epiteliale scuamoase vaginale ale femeilor mature sexual din cauza barierei acide a acestei mucoase. La fetițe pot produce vulvovaginită. De cele mai multe ori infecția evoluează asimptomatic; pacientele simptomatice prezintă scurgere vaginală, disurie și dureri abdominale. La 10–20% din femeile infectate apar complicații pe cale ascendentă (salpingită, abcese tubo-ovariene și boală inflamatorie pelvină), care pot fi urmate de sarcină extrauterină sau sterilitate.

Infecții diseminate (septicemie, artrită supurată a pumnului, genunchiului sau gleznei, erupții maculo-papulo-pustuloase în special la nivelul extremităților, mai rar endocardită și excepțional meningită) apar la 1–3% din femeile infectate și la un procent mult mai mic din bărbații infectați. Proportia mai mare de infecții diseminate la femei este explicată de numărul mare de infecții asimptomatice netratate.

Alte boli asociate cu *N. gonorrhoeae* sunt: peritonită cu perihepatita (sindromul Fitz-Hugh-Curtis), urmare a propagării infecției salpingiene; conjunctivita purulentă, în special la nou-născuți infectați în cursul nașterii naturale (*ophthalmia neonatorum*), gonoreea anorectală (la homosexuali sau ca urmare a contaminării cu scurgeri vaginale) și faringita.

(8) Imunitate. Anticorpii formați ca răspuns la infecția gonococică sunt predominant IgG₃. Răspunsul imun împotriva proteinei Por este minim, dar apar anticorpi împotriva pilinei, proteinei Opa și LOS. Anticorpii anti-LOS pot activa complementul, eliberând componenta C_{5a}, care are efect chemotactic pentru neutrofile. Anticorpii IgG și anticorpii IgA₁ secretori împotriva proteinei Rmp pot bloca aceste antigene. Pacienții cu deficiențe ale complementului au risc mai mare de a dezvolta boală sistemică. Lipsa imunității protectoare este explicată parțial prin diversitatea antigenică a tulpinilor de gonococ. Regiunea variabilă a pilinei este porțiunea imuno-dominantă a moleculei, care întârzie răspunsul imun față de domeniul funcțional (ligandul propriu-zis) al pilinei. Diversitatea antigenică explică și ineficiența vaccinurilor elaborate împotriva pilinei.

(9) Diagnosticul de laborator. *Microscopia* frotiului colorat cu albastru de metilen din secreția uretrală este sensibilă și specifică pentru depistarea infecției gonococice la bărbați cu uretrită purulentă (CD 10-1); sensibilitatea sa în depistarea infecției la bărbatul asimptomatic este $\leq 60\%$. Microscopia este de asemenea relativ lipsită de sensibilitate și specificitate în depistarea cervicitei gonococice la femei simptomatice sau asimptomatice, deși observarea diplococilor gram-negativi intracelulari „în boabă de cafea” are valoare diagnostică. Toate rezultatele echivoce sau negative la femei și bărbați asimptomatici trebuie confirmate prin

cultură. Examinarea frotiului colorat Gram este de asemenea utilă pentru diagnosticul precoce al artritei purulente.

Cultivarea. Deoarece mucoasele sunt normal colonizate, probele genitale, rectale și faringiene trebuie inoculate pe medii selective (e.g., mediul Thayer–Martin cu adaos de vancomicină, polimixină și nistatin) și pe medii neselective. Unele tulpini de gonococ sunt inhibitate de vancomicină. Deshidratarea probelor și temperaturile joase trebuie evitate prin inoculare pe medii preîncălzite imediat după recoltare. Hemoculturile sunt în general pozitive pentru gonococi doar în prima săptămână de boală la pacienți cu infecție diseminată.

Identificarea. Gonococul este identificat preliminar pe baza izolării de diplococi gram-negativi oxidază-pozitivi care cresc pe geloză-ciocolată sau pe medii selective pentru neisserii patogene. Identificarea definitivă este biochimică. Auxotipul AHU (dependent de arginină, hipoxantină și uracil) este cel mai frecvent întâlnit în infecții bacteriemice și este în general sensibil la penicilină.

Sonde de acizi nucleici comerciale pentru depistarea gonococilor sunt sensibile, specifice și rapide (rezultate disponibile în 2–4 ore). Principala problemă a acestei metode de diagnostic este că nu poate monitoriza rezistența la antibiotice.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Penicilina nu mai este antibioticul de elecție pentru tratamentul gonoreei din trei motive: (i) concentrația de penicilină necesară a inhiba *N. gonorrhoeae* a crescut; (ii) apariția rezistenței la penicilină mediată de β -lactamaze; (iii) apariția rezistenței mediate cromosomal, extinsă și la tetraciline, eritromicină și aminoglicozide; această rezistență rezultă din modificări ale suprafeței bacteriei, care împiedică antibioticul să penetreze în celulă.

Terapia etiotropă de elecție este cu ceftriaxonă în doză unică. În asociere cu doxiciclina sau azitromicina pentru prevenția uretritelor post-gonococice. Sensibilitatea la antibiotice *in vitro* trebuie determinată în cazurile care nu răspund la terapie deoarece rezistența la antibiotice este în creștere.

(11) Epidemiologia. *Rezervorul* major de infecție pentru gonococi sunt persoanele cu infecție asimptomatică (mai frecvent femei decât bărbați), alături de pacienți simptomatici. Infecțiile rectale și faringiene evoluează cu simptomatologie adesea minoră încât sunt subdiagnosticate. *Transmiterea* este predominant sexuală. Riscul de infecție crește în raport cu numărul contactelor sexuale cu parteneri infectați. Infecția se poate transmite la fete în condiții de promiscuitate sau după abuzuri sexuale. Nou-născuții se infectează în canalul de naștere.

Infecția gonococică evoluează endemic. Curbele multianuale arată vârfuri endemice periodice matematic corelate cu condiții precis identificate: socio-economice, (i) morale, (anti)educaționale, (pseudo)emancipare socială, iluzia că antibioticoterapia rezolvă problema acestei boli, mobilitatea mai mare a populațiilor cu creșterea imigrației din țări subdezvoltate, modernizarea mijloacelor anticoncepționale, „modernizarea” prostituției etc.

Diferența morbidității prin blenoragie între țările dezvoltate și subdezvoltate este semnificativă: Dacă în 1991 în populația de 57 milioane de locuitori ai Marii Britanii au fost înregistrate numai 11 cazuri de oftalmie gonococică neonatală, în Africa Sub-Sahariană boala afectează între 0,9 și 5% din nou-născuți. Dacă în 1978 la Toronto, Canada, 40% din persoanele care practicau prostituția transmiteau infecția gonococică, în insulele Pacificului de Vest rata transmiterii în acest grup populațional ajunge și în prezent la 90%. Consecințele sunt brutal resimțite: în acest areal, al Pacificului de Vest, în 1972 apărea rezistența gonococilor la β -lactamine și multirezistența la antibiotice, iar în 1994 rezistența la fluorochinolone.

(12) Profilaxia. Un vaccin eficient împotriva *N. gonorrhoeae* nu avem. Chimioprofilaxia este de asemenea inefficientă, mai puțin protecția nou-născuților împotriva conjunctivitei

gonococice: prin instilarea conjunctivală a soluției de nitrat de argint 1%, tetraciclină 1% sau eritromicină 0,5%.

Majoritatea eforturilor de a controla epidemia de gonoree constau în educație sexuală, depistarea și tratarea persoanelor infectate și urmărirea contactilor.

Experiența ultimilor 3500 de ani ne arată că endemia de gonoree este mai mult sub controlul instinctelor sexuale decât al moralei și educației. Singură teama de moarte a fost eficientă din timpurile biblice până în prezent: lapidarea desfrânaților consemnată în legile lui Moise, omorârea femeilor madianite care i-au dus în ispită pe fiii lui Israel *versus* teama de SIDA de la conștientizarea acestei boli în 1982.

10.1.2. *Neisseria meningitidis*

(1) **Habitat.** Omul este singura gazdă naturală. Acest diplococ gram-negativ capsulat poate coloniza nasofaringele indivizilor sănătoși (purători sănătoși).

(2) **Caracterele microscopice** sunt tipice ale genului.

(3) **Caractere de cultivare.** Pe geloză-ciocolat sau geloză-sânge meningococii formează colonii transparente, nepigmentate; creșterea lor este stimulată în atmosferă umedă cu 5% CO₂. Izolatele capsulate formează colonii mucoide.

(4) **Rezistența în mediul extern.** Bacterie fragilă, moare la temperaturi joase, uscăciune.

(5) **Structura antigenică.** *Neisseria meningitidis* este împărțită în serogrupe și serotipuri. Antigene polizaharidice capsulare permit diferențierea speciei în 13 serogrupe, mai frecvente fiind A, B, C, X, Y, W135. Antigenul polizaharidic B este identic cu antigenul capsular al *E. coli* K1. Clasificarea izolatelor în serotipuri și imunotipuri se bazează pe diferențe în proteinele membranei externe și compoziția în oligozaharide a lipooligozaharidului (LOS).

(6) **Factori de virulență:** *pili* permit colonizarea nasofaringelui; *capsula polizaharidică*, cu rol antifagocitar; *endotoxina LOS* mediază majoritatea manifestărilor clinice (e.g., afectarea epiteliului vascular, coagulare intravasculară diseminată); *IgA proteaza*, presupus factor de virulență.

Meningococii pot supraviețui intracelular în absența imunității umorale.

(7) **Patogenitate naturală și patogenie.** Poarta de intrare este rinofaringele. Doar la 1% din infectați apar septicemie sau meningită meningococică, restul sunt infecții asimptomatice. Raportul 1/1000 ține de virulența tulpinii și de receptivitatea gazdei, dependentă de:

(i) Absența anticorpilor bactericizi (specfici de grup și serotip) IgM și IgG, ce acționează în cooperare cu complementul;

(ii) Inhibiția acțiunii bactericide a serului prin fragmente blocante de IgA (posibil fragmente Fab rezultate sub acțiunea IgA proteazei);

(iii) Deficite congenitale în sinteza factorilor C₅, C₆, C₇ și C₈ ai complementului predispun la meningite meningococice recurente.

Meningococii se atașează selectiv, prin pili, la receptori specifici de pe celule columnare non-ciliate din nasofaringe. Meningococii lipsiți de pili se leagă mai puțin de aceste celule. Fagocitați, pot evita moartea intracelulară, se pot multiplica și apoi migra în spațiile subepiteliale. Capsula polizaharidică protejează *N. meningitidis* de fagocitoză.

Distrucția vasculară difuză asociată infecțiilor meningococice (e.g., leziuni endoteliale, inflamația pereților vasculari, tromboza, coagularea intravasculară diseminată) este atribuită acțiunii endotoxinei. *Neisseria meningitidis* produce în exces fragmente membranare care sunt eliberate în spațiul extracelular. Această hiperproducție continuă și eliberare de endotoxină pot cauza reacția endotoxică severă la pacienții cu infecție meningococică.

Infecției meningococice îi sunt asociate următoarele **tablouri clinice**: meningita cerebrospinală (epidemică), meningococcemie, alte sindroame.

Meningita cerebro-spinală (epidemică) este complicația unei bacteriemii ce rămâne neobservată. Infecția debutează de obicei brutal, cu cefalee, semne meningeale, febră. Copiii foarte mici pot avea doar semne nespecifice: febră și vărsături. Mortalitatea este aproape 100% la pacienții netratați și mai mică de 10% la pacienți la care s-a instituit prompt terapia corectă cu antibiotice. Incidența sechelelor neurologice în acest caz este mică, cel mai frecvent deficiențe auditive. Tratamentul tardiv este urmat de sechele – retard mental.

Septicemia (meningococcemia) cu sau fără meningită este o boală ce amenință viața bolnavului. Trăsăturile clinice caracteristice sunt consecința trombozei vaselor sanguine mici care are ca rezultat un infiltrat hemoragic perivascular în tegument și alte țesuturi. Frecvent apare o erupție maculo-peteșială pe trunchi și extremități. În cazuri mai grave apar necroze ale tegumentului și ale țesuturilor moi (CD 10-3). Uneori evoluează rapid mortal prin coagulare intravasculară masivă cu șoc endotoxinic meningococic, împreună cu distrugerea bilaterală a glandelor suprarenale (sindrom Waterhouse-Friderichsen).

Bacteriemia cronică a fost observată; poate persista zile sau săptămâni și singurele semne de infecție sunt febră moderată, artrită și leziuni cutanate peteșiale (CD 10-4). Răspunsul la antibioterapie la pacienți cu această formă de infecție este în general excelent.

Alte sindroame produse de *N. meningitidis* sunt rinofaringită, otită medie, conjunctivită, infecții ale tractusului respirator inferior, pericardită, artrită, infecții genitale (uretrită).

Pneumonia meningococică este de obicei precedată de o infecție a tractusului respirator superior. La majoritatea pacienților afectați poate fi obiectivată rinofaringita. Prognosticul pacienților cu pneumonie meningococică este favorabil.

(8) Imunitate. Infecția meningococică apare în absența anticorpilor specifici împotriva capsulei polizaharidice și altor antigene bacteriene.

Sugarii sunt inițial protejați de anticorpii materni. În jurul vârstei de 6 luni această imunitate se estompează. Imunitatea poate fi stimulată de colonizarea cu *N. meningitidis* sau cu alte bacterii cu reactivitate antigenică încrucișată (e.g., colonizarea cu specii necapsulate de *Neisseria*; expunerea la antigen *E. coli* K1, care reacționează încrucișat cu polizaharidul capsular de grup B).

Activitatea bactericidă necesită, de asemenea, acțiunea complementului. Pacienții cu deficiențe în factorii C₅, C₆, C₇ sau C₈ ai complementului au un risc de 6000 de ori mai mare pentru infecția meningococică.

Imunitatea este mediata în primul rând de răspunsul imun umoral. Reactivitatea limfocitelor la antigene meningococice este deprimată la pacienți cu infecție acută.

(9) Diagnosticul de laborator. Diagnosticul infecțiilor cu *N. meningitidis* este important pentru inițierea terapiei specifice la pacient și a profilaxiei la contacti. Cele mai utile produse patologice pentru depistarea meningococilor sunt sângele și lichidul cefalorahidian (LCR). Deși bacteria este prezentă în sânge la majoritatea pacienților cu infecție sistemică, aditivii din unele medii pentru hemocultură pot fi toxici pentru *Neisseria* și, prin urmare, pot inhiba sau întârzia creșterea bacteriană. Viabilitatea meningococilor poate fi afectată la pacienți pretratați cu antibiotice.

Depistarea și cultivarea meningococului din LCR la pacienții netratați este relativ ușoară datorită numărului mare de bacterii (de obicei sunt prezente > 10⁷ bacterii/mL). În sedimentul LCR observăm reacția inflamatorie intensă cu polimorfonucleare și diplococi gram-negativi intra- și extracelulari (CD 10-2).

Izolarea oferă diagnosticul definitiv, dar meningococii sunt pretențioși nutritiv și mor rapid atunci când sunt expuși la frig și uscăciune. Depistarea antigenelor meningococice (polizaharid capsular solubil) (contraimunelectroforeză, latex aglutinare) este insensibilă și nespecifică, în special pentru *N. meningitidis* serogrup B.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Terapia cu antibiotice și tratamentul de susținere pentru complicațiile infecției meningococice au redus semnificativ mortalitatea asociată cu această infecție. Până la stabilirea diagnosticului etiologic, terapia de primă intenție este cu cefalosporine (ceftriaxonă, cefotaxim). Din momentul stabilirii etiologiei, tratamentul de elecție este penicilina G. Rezistența la penicilină, mediată de β -lactamaze (CMI pentru penicilină $> 2 \mu\text{g/mL}$ – rezistența cu nivel înalt), este excepțională. Rezistența moderată (CMI între $0,1-1 \mu\text{g/mL}$) produsă prin alterări genetice ale proteinelor de legare a penicilinei are incidență în creștere. Deoarece terapia cu penicilină rămâne eficientă împotriva majorității acestor izolate, semnificația clinică a rezistenței cu nivel jos este incertă. Alte antibiotice cu penetrabilitate bună în LCR (cloramfenicol, rifampicină) pot fi folosite doar sub controlul antibiogrammei.

(11) Epidemiologie. *Rezervorul de infecție* este omul. Prevalența portajului asimptomatic de meningococi variază larg (1-40%), cu rate mai mari la copii de vârstă școlară, colectivități închise de adulți tineri și în populații cu statut socioeconomic scăzut. Portajul este de regulă tranzitoriu. *Transmiterea* se face prin picături Flüge, în condițiile unei conviețuiri apropiate (bacterie fragilă în mediul extern). *Receptivitate.* Cea mai mare incidență a infecției meningococice se observă la copii mai mici de 5 ani, persoane instituționalizate și pacienți cu deficiențe în ultimii factori ai complementului.

Infecția meningococică endemică există în toată lumea, mai frecvent în lunile reci ale anului. Epidemii sunt mai frecvente în țările în curs de dezvoltare. Răspândirea epidemică apare odată cu introducerea unei tulpini noi, virulente într-o populație neprotejată imunologic. Meningita meningococică este sporadică în țările dezvoltate, cu izbucniri epidemice rare în colectivități familiale și ocazional în colectivități închise de tineri (recruți).

Meningita și meningococcemia sunt cel mai frecvent produse de serogrupurile B și C, pneumonia de serogrupurile Y și W135; serogrupul A este asociat cu infecția meningococică epidemică în țări subdezvoltate. Clasificarea meningococilor în serotipuri este utilă în epidemiologie și pentru caracterizarea tulpinilor virulente (unele serotipuri bazate pe LOS sunt mai frecvent asociate cu boală invazivă). Totuși, analiza moleculară (e.g., electroforeza enzimatică multilocus, amprentarea ADN) a înlocuit analiza serologică în investigația epidemiologică.

(12) Profilaxie. Eradicarea portajului sănătos de *N. meningitidis* este puțin probabilă și, deci, nu are interes practic. Sterilizarea preventivă a purtătorilor cu rifampicină sau spiramicină este indicată în colectivități închise, când apar cazuri de meningită. Penicilina este ineficientă în eliminarea portajului.

Chimioprofilaxia vizează copiii și tinerii contacti care au relații apropiate și strânse cu pacienții, indiferent de serogrupul infectant. Profilaxia cu o sulfonamidă este recomandată persoanelor expuse la tulpini sensibile; rifampicina este utilizată pentru tulpini rezistente la sulfonamide.

Vaccinarea (vaccin purificat, polizaharid capsular) este utilizată doar pentru serogrupurile A, C, Y și W135. Nu există vaccin eficient împotriva serogrupului B (polizaharidul de grup B este slab imunogen). Vaccinuri polizaharidice conjugate cu proteine purtătoare (*carrier*) oferă protecție copiilor mai mici de 2 ani. Într-un focar de infecție meningococică, vaccinul trebuie aplicat cât mai curând după identificarea serogrupului; vor fi vaccinați copii sub 3 luni (infecție cu meningococ serogrup A) și, respectiv, copii sub 1 an (serogrup C). Până la apariția anticorpilor protectori (5-7 zile), protecția persoanelor receptive este asigurată prin chimioprofilaxie. Fragilitatea în mediul extern face inutilă dezinsecția în focar.

10.1.3. Alte specii de *Neisseria*

Neisseriile nepretențioase sunt comensale ale oro- și nasofaringelui unde găzduim frecvent două sau mai multe specii. Colonizarea cu o specie poate dura mai multe luni. Sunt condiționat patogene care infectează ocazional gazde compromise: meningite (*N. lactamica*, *N. mucosa*, *N. flava*), septicemii (*N. lactamica*, *N. subflava*), endocardite (*N. mucosa*, *N. sicca*, *N. subflava*, *N. cinerea*, *N. elongata*), osteomielite, artrite, celulite, sinuzite, otite medii, infecții bronhopulmonare, conjunctivite. Majoritatea izolatelor sunt sensibile la penicilină; a fost comunicată rezistență cu nivel jos la penicilină prin alterarea proteinei de legare a penicilinei (e.g., PLP₂).

10.2. GENUL *MORAXELLA*

Genul *Moraxella* poartă numele lui Victor Morax, oftalmolog francez care a descris conjunctivita produsă de una din speciile genului. Genul a suferit remanieri taxonomice, actualmente fiind împărțit în două subgenuri: subgenul *Moraxella* și subgenul *Branhamella*. Din cele șase specii ale subgenului *Moraxella* interes medical prezintă doar trei: *M. lacunata*, *M. nonliquefaciens* și *M. osloensis*, iar din cele patru specii de *Branhamella* doar una, *B. catarrhalis*, este găzduită de om ca bacterie condiționat patogenă.

Genul *Moraxella* reunește cocobacili groși, cu tendință la forme cocoide, gram-negativi, așezați predominant în perechi sau în lanțuri scurte, immobili, necapsulați. Excepție face *M. osloensis* care dezvoltă uneori forme bacilare subțiri sau filamentoase. Organismele din acest gen sunt strict aerobe, azaharolitice, oxidază și catalază pozitive. Subgenul *Branhamella* se prezintă ca diplococi gram-negativi asemănători neisseriilor.

Cultivă optim la 35°C. Pe geloză-sânge majoritatea culturilor sunt nehemolitice. Subgenul *Moraxella* cuprinde bacterii pretențioase nutritiv, care necesită medii îmbogățite. Creșterea cea mai bogată apare pe geloză-ciocolat; *B. catarrhalis*, nepretențioasă nutritiv, cultivă pe medii simple la temperatura camerei.

Moraxella/Branhamella sunt bacterii comensale ale omului și animalelor, la care colonizează mucoasele, în special tractusul respirator superior (excepție *M. osloensis*, prezentă în tractusul genital).

Speciile cu interes medical sunt condiționat patogene și determină infecții oculare sau respiratorii benigne (tabelul 10-2). Speciile de *Moraxella* mai frecvent implicate în patologia infecțioasă sunt *Moraxella lacunata* și *Branhamella catarrhalis*.

Tabelul 10-2 Genul *Moraxella*, implicații în patologia umană

Specia	Implicații în patologia umană
<i>M. lacunata</i> (bacilul lui Morax)	Conjunctivite, keratite
<i>M. nonliquefaciens</i>	Bronhopneumonii
<i>M. osloensis</i>	Meningite, septicemii, osteomielite, artrite septic
<i>B. catarrhalis</i>	Traheobronșite, pneumonii, sinuzite, otite medii, endocardite, septicemii, meningite, keratite, artrite supurate

Subgenul *Moraxella* este sensibil la peniciline, cefalosporine, aminoglicozide, tetraciline, rifampicină, polimixine. Dintre tulpinile de *Branhamella catarrhalis* peste 90% sunt rezistente la penicilină prin producere de β -lactamaze. Față de aceste tulpini sunt eficiente asociația amoxicilină + acid clavulanic și noile cefalosporine orale rezistente la β -lactamaze.

GABRIELA COMAN

„...numai ce au căutat lui Ștefăniță Vodă a purcede, și în cale mergând, aproape de Tighinea, pre Bâc...așa de greu l'a cuprins hierbințeala, cât până la Tighinea au stătut frănitic, adică buiguit de hire. Cu chipul ciumei era boala, că i-au ieșit bolfă la o mână. Ci nu era ciură, ci direaptă lungoare, cărei boli îi zic doftorii maligna; și cât au trecut Nistrul la Tighinea, a treia zi au stătut morți”

MIRON COSTIN

Minidefiniție. Reprezintă cea mai vastă unitate taxonomică, care include 28 genuri și peste 100 specii, cu următoarele caractere comune: bacili gram-negativi, majoritatea mobili prin flageli cu dispoziție peritriche, aerobi-facultativ anaerobi, nepretențioși nutritiv, catalază pozitivi, oxidază negativi, fermentează glucoza cu sau fără producere de gaz, reduc nitrații în nitriți.

Genurile din care fac parte cele mai frecvente specii izolate de la om sunt: *Escherichia-Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*.

11.1. CARACTERE GENERALE

Habitat. Sunt bacterii ubiquitare: fac parte din microbiota comensală intestinală a omului sau animalelor (sau sunt patogeni intestinali, de aici numele dat acestei familii; pot coloniza și alte suprafețe de înveliș (mucoasa oro-faringiană, genito-urinară) sau pot fi prezente în mediul extern (ape de suprafață, sol, plante).

Caractere microscopice: bacili gram-negativi (fără așezare particulară (CD 11-1); speciile *Yersinia* sunt mai frecvent cocobacilare, colorate bipolar iar speciile *Proteus* sunt uneori extrem de polimorfe (denumirea genului corespunde unui personaj mitologic care putea lua diferite înfățișări). Tulpini de *Klebsiella* sau, mai rar, *E.coli* pot prezenta în frotiuri colorate Gram din produse patologice o capsulă care apare sub forma unui halou clar în jurul bacililor (CD 11-2).

Caractere de cultivare. Cultivă pe geloză sau în bulion nutritiv. Cel mai frecvent, pe medii agarizate coloniile sunt de tip S, cu diametrul de 2-3 mm după 18 ore de incubare la 37°C iar în bulion cultura are aspect tulbure omogen. După repicaje repetate, poate să apară fenomenul de rough-izare (trecerea culturii din fază S în fază R). Caracterul β-hemolitic al coloniilor pe geloză-sânge este un atribut de tulpină și nu de specie. Aspecte particulare de cultivare:

- *Klebsiella* formează colonii mucoase, confluențe (CD 11-3) iar pe medii lichide un depozit la fundul eprubetei și un inel aderent la perete în partea superioară a mediului;

- *Proteus mirabilis* și *P.vulgaris* dau culturi invazive, în „văluri” concentrice, pe medii neselective (CD 11-4);

- specii *Enterobacter* sau *Serratia* au colonii pigmentate în roșu, roz sau galben;

- coloniile de *Yersinia* se dezvoltă mai lent, fiind minuscule la 18 ore de incubare,

diametrul putând atinge 2 mm după 2-3 zile.

Izolarea speciilor din familia *Enterobacteriaceae* poate fi realizată pe medii diferențiale și selective, cu lactoză și indicator de pH: pe medii cu selectivitate redusă (conțin concentrații mai mici de săruri biliare și cristal violet, e.g., mediul MacConkey), bacteriile gram-pozitive sunt inhibitate iar, în raport cu virarea indicatorului, baçili gram-negativi se diferențiază în lactozo-pozitivi și lactozo-negativi (CD 11-5); pe medii cu selectivitate mare (conțin concentrații superioare de săruri biliare, e.g., mediul Hektoen), sunt inhibați bacili coliformi (lactozo-pozitivi), lactozo-negativi putând fi diferențiați după cum produc sau nu H₂S – tulpinile care dezvoltă H₂S dau colonii cu centrul de culoare neagră, „în ochi de pisică” (CD 11-6).

Caractere biochimice. După stabilirea apartenenței unui bacil gram-negativ la familia *Enterobacteriaceae* pe baza testelor menționate în minidefiniție, urmează studierea unor caractere biochimice suplimentare care ne permit identificarea tulpinii izolate la nivel de specie:

- fermentarea unor zaharuri în apă peptonată adăugată cu un indicator de pH;
- evidențierea unui metabolit printr-o reacție caracteristică (e.g., producerea de indol cu reactiv Ehrlich, a acetoiniei prin reacția Voges-Proskauer);
- metabolizarea unui anumit substrat (e.g., malonatul de Na);
- utilizarea citratului de Na ca unică sursă de carbon (mediu Simmons);
- identificarea unor enzime prin evidențierea acțiunii lor asupra unor substraturi corespunzătoare incluse în mediu (e.g., ureaza, lizin-, ornitin- sau arginin-decarboxilaza, fenilalanin-dezaminaza).

Aceste teste sunt urmărite etapizat; după algoritmul folosit la noi în țară se realizează inițial un triaj biochimic pe două medii multitest, MIU (mobilitate-indol-urează) și TSI (triple sugar iron), urmat de o baterie extinsă de teste biochimice.

Rezistența în mediu extern. În funcție de gen sau specie, există diferențe privind durata de supraviețuire în condiții variate de mediu: *E.coli* nu poate supraviețui mult timp, motiv pentru care prezența sa indică o contaminare fecală recentă. În general sunt sensibile la acțiunea dezinfectanților uzuali, *Serratia* și *Proteus* fiind comparativ mai rezistente. Sunt omorâte în interval de 15-30 min. la 60°C și instantaneu sau în cel mult 5 min. la 100°C, ceea ce permite, ca prin tratament termic, să realizăm un control al acestor infecții transmise prin apă sau alimente.

Structura antigenică. Enterobacteriaceele au trei categorii majore de antigene de specificitate, identificate prin reacții de aglutinare cu seruri de referință (antigene somatice sau O), (antigene flagelare sau H) și (antigene de înveliș sau K).

Antigenele O fac parte din complexul LPS prezent în membrana externă (Capitolul 2), natura zaharurilor din lanțurile repetitive dătează imprimând specificitatea de grup. Pe baza acestor antigene, în cadrul unei specii, sunt descrise grupe serologice. Sunt termostabile (2 ore la 100°C), rezistente la acțiunea alcoolului etilic, fiind inactivate de formol. *In vivo* determină sinteza de anticorpi specifici anti-O, care pot servi în serodiagnostic (e.g., reacția Widal în febrele enterice).

Antigenele H sunt prezente numai la tulpinile mobile, fiind de natură proteică (flagelina). Sunt termolabile, inactivate de alcool și rezistente la formol. Permit diferențierea unor serotipuri (serovaruri) în cadrul aceluiași grup antigenic, de interes clinic și epidemiologic. La *Salmonella*, antigenul H prezintă două faze (faza 1 și 2) codificate de gene cromosomale diferite, care se exprimă alternativ într-o celulă bacteriană. *In vivo*, stimulează anticorpi specifici ce pot fi cantificați printr-o reacție de aglutinare, în paralel cu anticorpii anti-O.

Antigenele de înveliș, de natură polizaharidică, termolabile, poartă numele de **K** (capsular) la *Klebsiella* și *E.coli*, **B** la *Shigella*, **Vi** la *Salmonella* (serovaruri S.Typhi,

Genuri care includ specii cu patogenitate primară

Paratyphi C, Dublin) și *Citrobacter*. Când sunt bine reprezentate cantitativ pot masca antigenul O; redobândirea aglutinabilității în prezența serurilor specifice poate fi obținută prin încălzirea prealabilă a suspensiei bacteriene la 100°C timp de o oră.

Antigene F, fimbriale, de natură proteică sunt implicate în adezivitate. Unele dintre acestea au fost eronat descrise ca antigene K (K88, K99) la tulpini de *E.coli* izolate din boală diareică acută la porci, respectiv la viței.

11.2. GENURI CARE INCLUD SPECII CU PATOGENITATE PRIMARĂ

11.2.1. Genul *Escherichia*

Date recente de taxonomie moleculară au pledat pentru încadrarea speciilor *Escherichia* și *Shigella* într-un singur gen, dar din considerente istorice și practice ele vor fi prezentate separat. Genul *Escherichia* poartă numele medicului german Theodor Escherich care la sfârșitul secolului XIX a evidențiat pentru prima dată o astfel de bacterie în colonul uman, iar prima tulpină de *Shigella* a fost izolată în aceeași perioadă de bacteriologul japonez Kiyoshi Shiga, în onoarea căruia s-a dat numele genului.

Genul *Escherichia* include o singură specie de interes medical, *E.coli*, bacil gram-negativ lactozo-pozitiv, care fermentează glucoza cu gaz, produce indol, nu produce urează și H₂S, nu cultivă pe mediu cu citrat de Na. Comensal intestinal, domină microbiota aerob-facultativ anaerobă de la acest nivel. Aceste tulpini pot determina infecții oportuniste extraintestinale (colecistite, peritonite, pneumonii, infecții ale plăgilor, endometrite *postabortum* sau *postpartum* etc.), uneori cu evoluție septicemică și posibil șoc endotoxinic.

Există unele tulpini care, în plus de endotoxină, posedă factori particulari de patogenitate ce pot cauza 3 sindroame clinice: boală diareică acută, infecții urinare, meningite/septicemii la nou-născut. Anumite manifestări clinice pot fi asociate cu unele serotipuri definite prin antigenele O, H și K.

11.2.1.1. Patotipuri diareigene. Sunt în număr de 6: enterotoxigen, enterohemoragic, enteroinvaziv, enteropatogen, enteroagregativ, aderent difuz.

(1) ***E.coli* enterotoxigen (ECET)** declanșează o diaree apoasă. Factori de virulență: enterotoxine și adevine. **Toxina termolabilă (TL)** este structural și funcțional mult asemănătoare toxinei holerice: având o structură de tip A-B, prin cele 5 subunități B se leagă de receptorii ganglioizidici de pe suprafața enterocitului; subunitatea A, după internalizare, activează adenilat-ciclaza determinând creșterea nivelului AMP ciclic, care în final conduce la pierderi importante de apă și electroliți prin scaun. **Toxina termostabilă (TS)**, peptid cu greutate moleculară mică stimulează guanilat-ciclaza, care conduce la creșterea nivelului GMP ciclic, cu același efect final. O tulpină poate produce una sau ambele enterotoxine, codificate de gene plasmidice.

Pentru a cauza diaree, ECET trebuie să adere la enterocitele intestinului subțire prin intermediul unor **adevine fimbriale** care au specificitate de gazdă. La tulpinile izolate de la om cele mai frecvent prezente sunt **CFA I, CFA II, CFA IV** (*Colonization Factor Antigens*); genele ce codifică proteinele fimbriale sunt situate pe aceleași plasmide care includ genele pentru cele două enterotoxine.

Din punct de vedere clinic, debutul este brusc, după o incubatie scurtă de 1-2 zile, cu scaune apoase, în volum mare, rar însoțite de febră sau vărsături; aceste manifestări au un caracter autolimitat, fiind mai frecvente la sugari.

(2) ***E.coli* enterohemoragic (ECEH)** produce **două citotoxine** cu efect citopatic pe culturi de celule Vero, **VT 1 și VT 2**, prima fiind neutralizată de anticorpii specifici față de toxina Shiga. Genele care codifică aceste toxine sunt prezente în genomul unui profag. Aceste toxine au tropism pentru endoteliul vaselor de sânge și unele organe, cei mai numeroși receptori fiind

exprimați la nivelul rinichiului, pancreasului și creierului.

Aderența la enterocitele colonului se realizează prin intermediul unei proteine din membrana externă, **intimina**, codificată cromosomal, prezentă și la tulpini *E.coli* enteropatogen, ce determină aplatizarea microvililor și contribuie astfel la declanșarea manifestărilor diareice prin malabsorbție.

Majoritatea tulpinilor ce corespund acestui patotip aparțin serotipului O157 H7; mai recent și alte serotipuri s-au dovedit capabile să determine manifestări clinice asemănătoare (O26 H11, O103 H2, O113 H21).

După o incubatie medie de 3-4 zile, primele manifestări de boală constau în dureri abdominale colicative, febră de scurtă durată, scaune frecvente cu caracter apos și uneori vărsături; în formele severe scaunele prezintă macroscopic sânge. În special la vârste extreme, în aproximativ 10% din cazuri, poate să survină o complicație gravă: sindromul hemolitic uremic (anemie hemolitică microangiopatică, trombocitopenie, insuficiență renală acută).

(3) ***E.coli* enteroinvaziv** (ECEI) se aseamănă cu speciile *Shigella* în mecanismele patogenetice ale bolii diareice pe care o provoacă. Sediul infecției este colonul unde aderența este urmată de invazia celulelor epiteliale. Gene situate pe un plasmid codifică **proteine** (Ipa B-D) **responsabile de penetrarea, liza vacuolei endocitare, multiplicarea intracitoplasmatică și extinderea la celulele adiacente**; în infecții severe, un răspuns intens inflamator și distrucții tisulare determină constituirea de leziuni ulcerative la nivelul mucoasei colonului. Ca și speciile *Shigella*, aceste tulpini elaborează una sau mai multe **enterotoxine**.

Cel mai frecvent aceste infecții evoluează cu diaree apoasă, manifestările clinice fiind asemănătoare cu cele determinate de ECET; un număr redus de cazuri prezintă febră, tenesme, scaune cu mucus și sânge (sindrom dizenteriform).

(4) ***E.coli* enteropatogen** (ECEP) a fost primul fenotip diareigen descris, implicat în infecții la copilul de vârstă mică (sub 2 ani), fiind recunoscută apartenența acestor tulpini la anumite serotipuri (O55 H6; O86 H34; O111 H2, H12; O119 H6 etc). Determină o diaree cu caracter apos, uneori cu durată prelungită, prin atașare la enterocitele intestinului subțire datorită unor **adezine fimbriale**, urmată de aderența intimă la acestea prin proteine membranare, **intimina**, ce conduce la aplatizarea microvililor, mecanisme subordonate unor gene plasmidice și cromosomale. Un răspuns inflamator local și creșterea permeabilității celulelor intestinale pot de asemenea contribui la manifestările diareice; frecvent acestea se însoțesc de febră și vărsături.

(5) ***E.coli* enteroagregativ** (ECEAg) este numit astfel în raport cu aderența particulară, de tip agregativ pe culturi de celule Hep-2. *In vivo*, aderă la enterocite prin **adezine fimbriale**, AAF I și II (**Aggregative Adherence Fimbriae**), stimulează apoi secreția de mucus care înglobează aceste bacterii, explicând colonizarea de durată a mucoasei intestinale și în final, prin producerea unei **citotoxine**, determină leziuni distructive (necroza microvililor) însoțite de un răspuns inflamator în submucoasă. Provoacă o diaree apoasă, frecvent cu caracter persistent, cu prezența evidentă de mucus în scaun, mai ales la sugari.

(6) ***E.coli* aderent difuz** (ECAD), ultimul fenotip diareigen descris, este incriminat în diaree apoasă la copilul de vârstă mai mare (1-5 ani), mecanismele patogenetice fiind mai puțin bine cunoscute. Atașarea la enterocite este conferită de **adezine fimbriale** codificate de gene plasmidice sau cromosomale. Aceste bacterii sunt capabile să determine alungirea microvililor care le includ, fără internalizate în enterocit.

Mecanismele patogenetice descrise la cele 6 patotipuri diareigene de *E. coli* sunt prezentate schematic în fig.11-1.

Examine de laborator. Toate patotipurile diareigene de *E. coli* pot fi identificate prin teste de laborator, unele inaccesibile laboratorului clinic. În ultimii ani au fost puse la punct tehnici moleculare de identificare a genelor care codifică factorii de patogenitate.

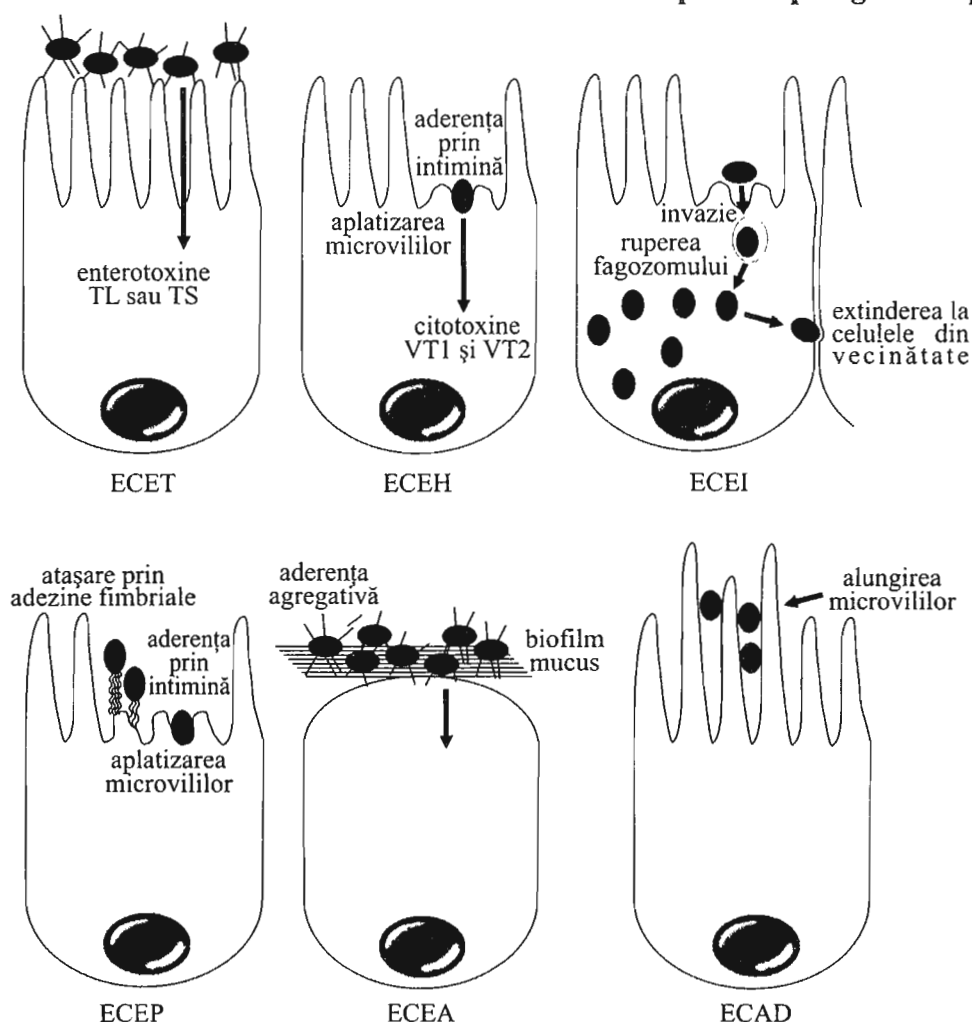


Fig. 11-1 Patotipuri diareigene de *E.coli*; prezentare schematică a mecanismelor patogenetice (după Nataro J. P. și Kaper J. B.)

Cele două enterotoxine, TL și TS produse de ECET sunt puse în evidență prin metode imunologice: ELISA, latexaglutinare, coaglutinare. Caracterul autolimitat al manifestărilor clinice pune în discuție utilitatea acestor metode de diagnostic în lipsa unor episoade epidemice.

Izolarea din probe de scaun și identificarea ECEH O157 H7 este posibilă prin însămânțare pe un mediu diferențial cu sorbitol, aceste tulpini, spre deosebire de cele comensale, fiind sorbitol-negative; coloniile suspecte sunt apoi identificate serologic prin reacție de latexaglutinare. Pentru evidențierea producerii celor două verotoxine este necesară expedierea lor la un laborator de referință. Acest diagnostic este recomandat în special la cei cu scaune cu mult sânge, randamentul fiind maxim în primele zile de boală.

Tulpinile ECEI izolate din coproculturi prin metode uzuale pot fi confundate cu cele de *Shigella*, fiind lactozo-negative, imobile și lizin-decarboxilază negative; de asemenea, caracterul enteroinvaziv se corelează cu testul keratoconjunctivitei la cobai (testul Sereny). Impactul asupra pacientului, legat de această confuzie de încadrare este lipsit de importanță, în formele severe de boală tratamentul cu fluorochinolone rezolvând clinic ambele etiologii.

Tulpinile ECEP izolate pe medii diferențiale cu lactoză au fost mult timp identificate prin reacții de aglutinare cu seruri specifice anti-O și H. În prezent, această caracterizare nu mai este considerată esențială, cea mai eficientă este identificarea ECEP, ECEAg și ECAD

prin inocularea tulpinii de testat pe culturi de celule Hep-2: după 3 ore de incubare la 37°C în atmosferă cu 5%CO₂, examinarea cu obiectiv cu imersie a preparatului microscopic fixat și colorat face posibilă diferențierea acestora după aspectul particular de aderență: localizată, de tip agregativ sau aderent difuz (CD 11-7,8,9).

Principii de terapie etiotropă. Toate infecțiile diareice determinate de *E.coli* beneficiază de reechilibrare hidro-electrolitică pe cale orală sau, în forme severe, pe cale intravenoasă, alături de regim alimentar. Tratamentul cu antibiotice nu este în general necesar, fiind luat în discuție riscul antibioterapiei în dezvoltarea sindromului hemolitic uremic la cei cu scaune hemoragice determinate de ECEH.

Epidemiologie. Tulpinile diareigene de *E.coli* sunt întâlnite numai la om, cu excepția ECEH prezent în flora fecală a animalelor, rezervorul pentru serotipul O157 H7 fiind reprezentat în special de vite. Aceste infecții pot să survină după consum de alimente sau apă contaminate; preparate din carne insuficient tratate termic și laptele nepasteurizat pot fi implicate în transmiterea tulpinilor ECEH. De asemenea este posibilă transmiterea interumană prin intermediul mâinilor contaminate fecal, dar nu în cazul ECET pentru care doza infectantă este mare, aproximativ 10⁸UFC. Infecțiile cu ECET și ECEH evoluează la orice vârstă, celelalte patotipuri îmbolnăvesc cu predilecție sugarii sau copiii de vârstă mică. Caracterul endemo-epidemic, în special în țări subdezvoltate economic, cu condiții de igienă individuală și colectivă precare, este o caracteristică a infecțiilor cu ECET, ECEP, ECEI, ECEAg, tulpini de ECEP fiind la originea unor episoade epidemice nosocomiale. La turiști ce provin din țări cu standard economic ridicat care se deplasează în aceste zone pot să evolueze infecții cu ECET (reprezintă agentul etiologic al „diareei voiajorilor” în 20-40% din cazuri).

Profilaxie. Sunt eficiente măsurile generale de profilaxie care funcționează pentru toate infecțiile cu transmitere digestivă (Capitolul 7.1.). Alimentația la sân poate preveni aceste infecții la nou-născuți și sugari. Există în studiu vaccinuri pentru profilaxia specifică a infecțiilor cu ECET și ECEH.

11.2.1.2. Patotipuri uropatogene. Aceste tulpini sunt responsabile în peste 90% din cazurile de infecții urinare necomplicate (fără o cauză patologică morfo-funcțională locală). Ele colonizează intestinul, regiunea perineală și uretra distală și pot cauza infecții ascendente joase sau înalte, mai frecvente la sexul feminin datorită particularităților anatomice ale uretrei; ascensiunea poate fi favorizată la acestea de actul sexual. **Fimbrii de tip P** (aderă specific la antigenul de grup sanguin P) determină atașarea la celulele uroepiteliului ce exprimă pe suprafață receptori specifici. **Fimbrii de tip 1** joacă un rol suplimentar în aderența acestor bacterii la mucoasa vezicii urinare și glicoproteina urinară Tamm-Horsfall. Alți factori de patogenitate descriși la astfel de tulpini: **siderofori** cu rol esențial în obținerea Fe necesar metabolismului bacterian, **hemolizine** cărora li se recunoaște un rol în inhibarea chemotaxiei PMN și a fagocitozei, **capsula polizaharidică**, de asemenea cu rol antifagocitar (mai frecvent întâlnite fiind serotipurile capsulare K 1, 2, 3, 5, 12 și 13); de asemenea, unele **adezine din membrana externă** au fost asociate cu infecții urinare. Variații individuale privind densitatea receptorilor celulari pot explica predispoziția unor persoane pentru infecții urinare repetate.

Clinic pacientul prezintă disurie și polachiurie; infecțiile înalte evoluează în plus cu febră și dureri spontane sau provocate în lojele renale. Urina are un aspect tulbure, uneori hematuric. Pielonefritele pot evolua bacteremic sau septicemic.

Diagnosticul de laborator. Numărul de leucocite din urina agitată este crescut, peste 10/μL. Examenul bacterioscopic al frotiului efectuat cu ansa calibrată (0,01 mL) ne permite să evidențiem prezența de bacili gram-negativi, ≥ 1 bacil/câmp. În contextul acestor rezultate rapide care pledează pentru o infecție urinară, efectuăm urocultura cantitativă pe mediu MacConkey și geloză-sânge. Diagnosticul este confirmat când colonii lactozo-pozitive, uneori

cu caracter hemolitic sunt în număr $\geq 10^5$ UFC/mL; un număr echivoc între 10^4 - 10^5 UFC/mL necesită obținerea unei noi probe de urină, de preferat cea matinală. Identificarea speciei se realizează pe baza testelor biochimice. Efectuarea antibiogrammei difuzimetrice pentru tulpina izolată servește o terapie antibacteriană țintită.

Principii de terapie etiotropă. Peniciline cu spectru larg, cefalosporine, cotrimoxazol, fluorochinolone, nitrofurantoin sunt cele mai frecvente antibiotice folosite în tratamentul infecțiilor urinare. Opțiunea pentru unul dintre acestea va fi în raport cu sensibilitatea *in vitro* a tulpinii izolate și localizarea infecției (în infecții înalte, tratamentul inițial constă din antibiotice cu administrare parenterală).

11.2.1.3. Patotipul bacteriemic, care posedă **antigenul capsular K1** determină meningite neonatale, făcând parte, alături de *Streptococcus agalactiae* și *Listeria monocytogenes* din cei trei agenți etiologici majori ai meningitelor bacteriene la această vârstă. Antigenul capsular, factor major de patogenitate, este un polimer de acid N-acetil neuraminic, asemănător cu antigenul capsular de grup B al *N.meningitidis*, asociat cu unele antigene O (O7 și O18). Colonizarea intestinală a nou-născutului imediat după naștere cu astfel de tulpini prezente în vaginul mamei este urmată de bacteriemie cu localizare secundară la nivelul meningelui. Această evoluție este explicată prin absența anticorpilor specifici materni de tip IgM, care nu traversează placenta și recunoașterea ca *self* a antigenului K1, ce prezintă determinanți comuni cu glicopeptide cerebrale; scăderea progresivă postnatal a acestor structuri tisulare conduce la dezvoltarea răspunsului imun față de acest antigen K1.

11.2.2. Genul *Shigella*

Include bacili gram-negativi imobili, lactozo-negativi. În mod caracteristic fermentează glucoza fără gaz, nu produc H_2S și urează, nu descompun lizina, nu cultivă pe mediu cu citrat de Na.

Pe baza antigenului O sunt diferențiate 4 specii: *S. dysenteriae* (cu 13 serotipuri), *S. flexneri* (cu 8 serotipuri), *S. boydii* (cu 18 serotipuri), *S. sonnei* (cu un serotip). În afară de *S. sonnei*, prezintă antigene de înveliș ce pot masca antigenul O.

Factori de patogenitate. Caracterul enteroinvaziv al acestor bacterii este conferit de factori de patogenitate identici cu cei descriși la ECEI. Două enterotoxine, ShET1 și ShET2, codificate cromosomal, respectiv plasmidic, evidențiate recent, explică caracterul apos al diareei din faza inițială de boală. *S. dysenteriae* serotip 1 (sau bacilul Shiga) eliberează prin liză o citotoxină (toxina Shiga) codificată de gene cromosomale, identică antigenic și cu efecte biologice asemănătoare cu VT1 produsă de *E. coli* O157 H7.

Patogenitate naturală și patogenie. Dizenteria bacilară este o infecție specifică omului, cu incubatie scurtă (1-3 zile), consecutiv pătrunderii pe cale orală a unui număr redus de bacterii (mai puțin de 200), legat de acidotoleranța acestora. Infecția se localizează la nivelul colonului unde are loc invazia mucoasei cu constituirea de leziuni ulcerative. Se manifestă clinic cu febră, dureri abdominale colicative, tenesme, scaune inițial cu caracter apos, apoi cu mucus și sânge, în volum redus, uneori vărsături; la sugar pot apărea convulsii. Forme clinice grave se înregistrează în special la vârste extreme și imunodepresați. Aproximativ 3% din cazuri pot să dezvolte artrite reactive sau sindrom Reiter, pentru aceste complicații existând o predispoziție genetică (la cei cu HLA-B27).

În zona noastră geografică îmbolnăvirile sunt determinate cel mai frecvent de *S. flexneri* și *S. sonnei*; *S. dysenteriae* serotip 1, cu circulație în țări cu climă tropicală, este responsabil de formele cele mai severe de boală, complicate cu sindrom hemolitic uremic.

Imunitate. Trecerea prin boală este urmată de câștigarea rezistenței pentru mai mulți ani față de reinfecția cu același serotip; IgA ale barierei imune conferă această protecție, rolul

Ig serice fiind minor.

Diagnosticul de laborator constă în punerea în evidență a unei specii *Shigella* în probele de scaun. Această etiologie este suspectată clinic și prin prezența leucocitelor, în număr mare, la examenul microscopic al materiilor fecale. Coprocultura realizată pe medii diferențiale și selective (Hektoen, MacConkey) evidențiază colonii lactozo-negative care apoi sunt identificate biochimic și serologic.

Principii de tratament etiotrop. Formele ușoare de boală pot beneficia de regim alimentar și rehidratare pe cale orală. În formele medii și grave, administrarea de antibiotice scurtează durata manifestărilor clinice și de portaj fecal. În raport cu sensibilitatea la antibiotice a tulpinii izolate, apreciată prin antibiogramă, aceste infecții pot fi tratate cu cotrimoxazol, fluorochinolone, azitromicină și numai în formele severe cu ceftriaxonă.

Epidemiologie. Sursa de infecție o constituie bolnavul sau purtătorul convalescent, transmiterea fiind cel mai frecvent fecal-orală, mai rar consecutiv consumului de alimente sau apă contaminată. Sunt expuși mai ales copiii sub vârsta de 5 ani, dar receptivitatea poate să se manifeste la orice vârstă. Evoluează endemo-epidemic, în țările cu climă temperată înregistrându-se o frecvență mai mare a îmbolnăvirilor spre sfârșitul sezonului estival.

Profilaxie specifică. Un vaccin administrat pe cale orală, reprezentat de o tulpină *S. flexneri* tip 2a cu virulență atenuată, a determinat rezultate încurajatoare.

11.2.3. Genul *Salmonella*

Denumirea genului se leagă de numele medicului veterinar american Daniel Salmon care la sfârșitul secolului XIX a izolat din intestinul porcului prima tulpină aparținând acestui grup taxonomic. Fac parte din acest gen bacili gram negativi lactozo-negativi, mobili, care produc H_2S , descompun lizina și ornitina, cultivă pe mediu cu citrat de Na, nu produc indol, urează și fenilalanin-dezaminază; dintre serotipurile de interes medical, *Salmonella* Typhi și Paratyphi A au un comportament biochimic diferit.

Taxonomia actuală. Prin metode moderne de taxonomie moleculară sunt recunoscute în acest gen 2 specii, *S. enterica* cu 6 subspecii și *S. bongori*; 99,5% din tulpinile de salmonele implicate în infecții umane aparțin speciei *S. enterica* subspecia *enterica*. Pe baza antigenului O au fost descrise numeroase grupe serologice notate cu literele mari ale alfabetului, de la om fiind izolate tulpini aparținând în special grupelor A-E. Antigenul H, în fază 1 și 2, permite individualizarea în interiorul aceluiași grup a serotipurilor, în total peste 2000, cărora inițial li s-a acordat denumirea binominală de specie; în prezent s-a acceptat păstrarea acestor denumiri, scrise însă fără caractere italice și cu majusculă. Structura antigenică la *Salmonella* este exprimată printr-o formulă care include AgO, AgH în fază 1 și AgH în fază 2 (tabel 11-1). *Salmonella* Typhi, Paratyphi C și Dublin sunt definite în plus prin prezența Ag Vi.

Factori de patogenitate. Salmonelele, ca și alte enterobacteriacee posedă **endotoxină**, responsabilă de manifestări sistemice. În plus, sunt dotate cu **invazine**, proteine din membrana externă care mediază aderența la și penetrarea în celulele epiteliului intestinal. **Bacterii facultativ intracelulare**, reușesc să supraviețuiască în celulele fagocitare prin neutralizarea radicalilor toxici de oxigen (produc catalază și superoxid-dismutază) și a defensinelor. În plus, gene ART (*Acid Tolerance Response*) codifică factori ce conferă acestor bacterii rezistență la pH-ul acid de la nivelul fagolizozomilor. **Antigenul Vi**, prezent la *S. Typhi* și *S. Paratyphi C* este antifagocitar. Serotipurile non-tifice produc una sau mai multe **enterotoxine-like**, a căror rol în patogenia manifestărilor diareice nu a fost bine stabilit.

Habitat. Există serotipuri *Salmonella* cu specificitate de gazdă, prezente numai la om (*S. Typhi*, *S. Paratyphi A*), animale (*S. Typhisuis*, *S. Abortusovis* etc.) sau păsări (*S. Gallinarum*, *S. Pullorum*). Majoritatea serotipurilor nu au o gazdă preferențială: *S. Typhimurium*,

Genuri care includ specii cu patogenitate primară

S. Heidelberg, *S. Agona* (grup B), *S. Thompson*, *S. Bovismorbificans* (grup C), *S. Enteritidis* (grup D), *S. Anatum* (grup E) etc. În general, există o distribuție geografică diferită a acestora, cel mai frecvent izolate în zona noastră fiind *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* și în unele perioade *S. Agona*.

Tabelul 11-1 Formula antigenică a serotipurilor de *Salmonella enterica* mai frecvent izolate; () marchează factori antigenici care pot fi absenți.

Serotip	Antigen O	Antigen H	
		Faza 1	Faza 2
<i>S. Paratyphi A</i>	Grup A 1,2,12	a	-
<i>S. Paratyphi B</i>	Grup B 1,4,(5),12	b	1,2
<i>S. Typhimurium</i>	1,4,(5),12	i	1,2
<i>S. Heidelberg</i>	1,4,(5),12	r	1,2
<i>S. Agona</i>	1,4,12	f,g,s	-
<i>S. Derby</i>	1,4(5),12	f,g	-
<i>S. Paratyphi C</i>	Grup C 6,7/Vi	c	1,5
<i>S. Concord</i>	6,7	l,v	1,2
<i>S. Thompson</i>	6,7	k	1,5
<i>S. Bovismorbificans</i>	6,8	r	1,5
<i>S. Newport</i>	6,8	e,h	1,2
<i>S. Typhi</i>	Grup D 9,12/Vi	d	-
<i>S. Enteritidis</i>	1,9,12	g,m	-
<i>S. Anatum</i>	Grup E 3,10	e,h	1,6
<i>S. London</i>	3,10	l,v	1,6

Patogenitate naturală și patogenie. Atât serotipurile cu specificitate pentru om cât și cele ubicuitare pot determina un spectru larg de manifestări clinice, fiind descrise 3 sindroame majore: febre enterice, toxiinfecții alimentare/gastroenterite acute și bacteriemii/septicemii non-tifice cu localizări secundare.

(1) **Febre enterice.** Sunt infecții sistemice cu poartă de intrare digestivă determinate de *S. Typhi* (febra tifoidă), mai rar de *S. Paratyphi A*, *B*, și *C* (febrele paratifoide).

Manifestări clinice. După o incubatie medie de 14 zile, apare o stare subfebrilă, cu o creștere progresivă a valorilor termice, însoțită de anorexie, cefalee, dureri abdominale fără modificări de tranzit. După aceste manifestări nespecifice de boală, care durează aproximativ o săptămână, bolnavul prezintă în următoarele 2-3 săptămâni febră ridicată (în platou) cu bradicardie relativă în raport cu valorile termice, stare generală puternic influențată (stare tifică), hepato-splenomegalie, uneori prezența pe tegument a unor elemente maculo-papuloase de culoare rozie (pete lenticulare) situate la baza toracelui și pe abdomen. În această perioadă pot să survină hemoragii sau perforații intestinale ce pun în pericol viața bolnavului. Cele mai severe forme clinice sunt determinate de *S. Typhi*, dar pot evolua forme medii sau ușoare de boală cu aceeași etiologie. În absența complicațiilor, febra scade *in lisis* și bolnavul intră în faza de convalescență. Vindecarea clinică nu coincide cu cea bacteriologică, pacientul putând rămâne în aproximativ 5% din cazuri un purtător cronic fecal (mai ales cei care dezvoltă o

colecistită litiazică) sau mai rar urinar.

Patogenie (☞ schema). Ajunsă în tubul digestiv, *S. Typhi* este influențată de bariera acidă gastrică, ceea ce explică doza infectantă de 10^5 - 10^6 UFC la cei cu normoaciditate și mult mai scăzută în caz de hipo-, aclorhidrie sau tratament cu medicație antiacidă. În intestinul subțire aceste bacterii penetrează mucoasa intestinală, ajung în ganglionii mezenterici unde se multiplică, invadează apoi circulația sangvină prin canalul toracic și, în cursul acestei bacteriemii tranzitorii, sunt captate de către macrofagele sistemului reticuloendotelial din splină, ficat, măduva osoasă; aceste fenomene corespund perioadei de incubatie.

După multiplicare în aceste organe, bacili tifici ajung din nou în circulația sangvină determinând a doua bacteriemie ce marchează debutul bolii; în acest stadiu bacteriile pot fi izolate frecvent din sânge până la apariția anticorpilor specifici. La sfârșitul primei săptămâni de boală, bacili eliminați prin bilă pot fi puși în evidență în probele de scaun și din a doua săptămână pot fi eliminați prin urină.

În cursul celei de a doua prezențe în intestinul subțire, bacili tifici pot determina la nivelul plăcilor Peyer leziuni inflamatorii urmate de necroză și hemoragii prin mecanism de sensibilizare de tip IV.

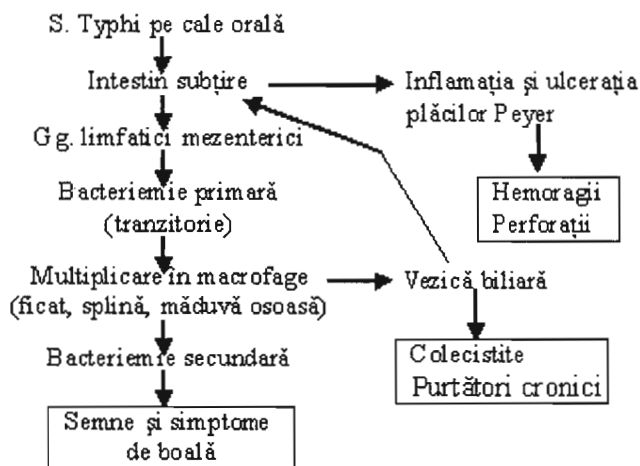
Imunitate. Ca și în alte infecții cu bacterii facultativ intracelulare, în febra tifoidă importanță majoră are imunitatea de tip celular. Anticorpilor serici au un rol adițional, în prezența lor, la titruri ridicate, putând să survină recăderi în perioada de convalescență. Rolul protector al IgA la nivelul mucoasei intestinale este susținut de eficiența vaccinării pe cale orală.

Diagnosticul de laborator. În febrele enterice, infecții cu evoluție prelungită, diagnosticul etiologic este posibil prin examene bacteriologice sau serologice.

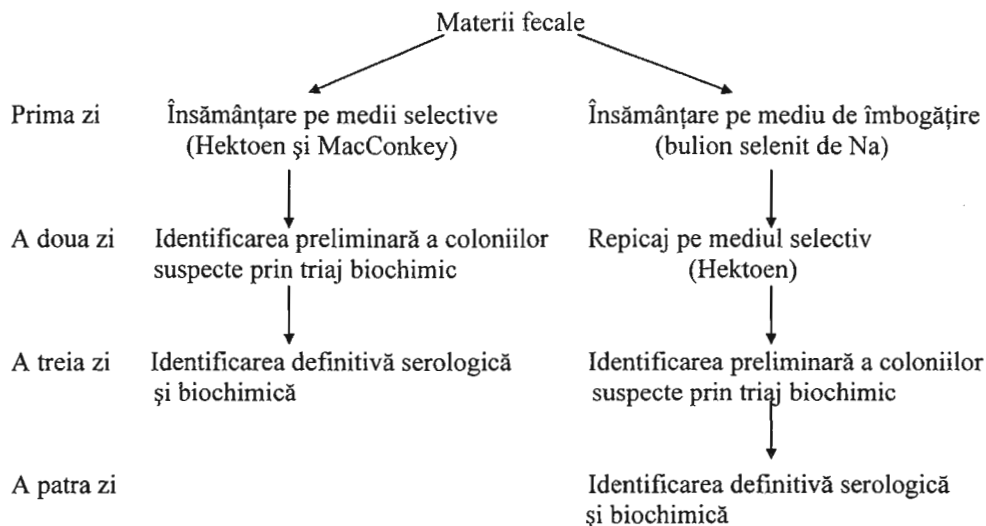
Diagnosticul bacteriologic în prima săptămână de boală poate fi realizat prin hemoculturi pe medii uzuale, pozitive în peste 90% din cazuri; procentul de pozitivitate scade ulterior progresiv, până la 10% în a 4-a săptămână. Din a doua săptămână de boală se efectuează coproculturi pe medii de îmbogățire (bulion selenit de Na) și selective (mediu Hektoen sau ADCL și MacConkey) (vezi schema de mai jos), iar din săptămâna a 3-a uroculturi din sedimentul urinar pe aceleași medii. În convalescență starea de purtător poate fi urmărită prin coproculturi, uroculturi și biliculturi.

Diagnosticul serologic este util când izolarea agentului etiologic nu a fost posibilă, cel mai frecvent din cauza unor tratamente „oarbe” cu antibiotice. Reacția Widal permite evaluarea titrului aglutinelor anti-O și anti-H față de *S. Typhi*, Paratyphi A, B și C. Anticorpilor anti-O apar din a 8-a zi de boală, ating valori peste 1/200 în perioada de stare și dispar după 2-3 luni, fiind un marker al unei infecții recente; datorită unor comunități antigenice cu alte serotipuri *Salmonella*, *Y. pseudotuberculosis* sau alți reprezentanți ai familiei *Enterobacteriaceae*, acest tip de reacții pot conduce la rezultate fals pozitive.

Anticorpilor anti-H apar în ziua 10-12, ating apoi valori mai ridicate, peste 1/800 și persistă mai mulți ani; au însă o specificitate mai mare. Anticorpilor anti-Vi apar tardiv și la titruri mici, fiind fără valoare diagnostică.



Genuri care includ specii cu patogenitate primară



Principii de tratament etiotrop. În tratamentul febrei enterice folosim antibiotice active față de tulpina izolată de la bolnav și care au o bună penetrabilitate intracelulară. În general, cloramfenicolul și cotrimoxazolul, utilizate cu mai mulți ani în urmă, din cauza fenomenelor toxice și/sau rezistenței secundare, au fost înlocuite cu fluorochinolone (ciprofloxacina, ofloxacina) sau ceftriaxona. Ampicilina, cu o bună eliminare biliară, este recomandată în sterilizarea purtătorilor când tulpina se demonstrează sensibilă.

Epidemiologie. Febrele enterice pot evolua endemo-epidemic, lizotiparea permițând stabilirea filiației cazurilor. Sursa de infecție este reprezentată de bolnavi sau purtători fecali ori urinari, iar transmiterea poate avea loc prin consum de apă sau, mai rar, alimente contaminate. Receptivitatea la infecție este condiționată de absența imunității specifice, bariera gastrică putând influența doza infectantă.

Profilaxie specifică. În vaccinarea anti-tifoidică, indicată la persoane care se deplasează în zone hiperendemice sau la populația din zone calamitate natural (inundații, cutremure) pot fi utilizate mai multe tipuri de vaccin: (a) suspensie inactivată de *S. Typhi* administrată pe cale injectabilă, care este reactogen și conferă o imunitate mediocră (este disponibil la noi în țară); (b) vaccin viu atenuat (tulpina mutantă Ty 21a) administrat pe cale orală după vârsta de 6 ani, care stimulează imunitatea locală; (c) polizaharidul Vi purificat utilizat pe cale injectabilă după vârsta de 2 ani, stimulează IgG specifice.

(2) **Toxiinfecții alimentare/gastroenterite acute.** Toxiinfecțiile alimentare evoluează la persoane care au consumat dintr-un aliment contaminat cu unul din serotipurile non-tifice și în care acestea s-au multiplicat (preparate din carne, lapte nepasteurizat, ouă nefierți, contaminate de la sursă sau în cursul procesării). După depășirea barierei acide gastrice, aceste bacterii colonizează ileonul și colonul, invadează enterocitele fără să se elibereze din fagosom și în final ajung în *lamina propria* unde declanșează un răspuns inflamator. Mecanismul de activare a adenilat-ciclazei responsabilă de caracterul apos al diareei nu este bine cunoscut; au fost implicate prostaglandine și alți produși ai reacției inflamatorii, precum și enterotoxine-like (☞ schema).

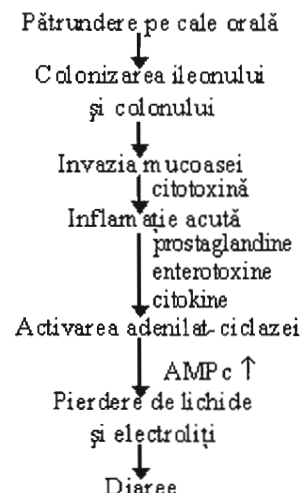
După incubatie de 10-48 ore, aceste infecții se manifestă cu febră, inapetență, dureri colicative abdominale, diaree apoasă, vărsături, fenomene care dispar în 2-4 zile prin regim alimentar și rehidratare pe cale orală sau parenterală. Tratamentul cu antibiotice de regulă nu scurtează durata manifestărilor clinice și, în plus, prelungește starea de portaj. Ca în shigeloză, un număr redus de cazuri pot să prezinte, după episodul acut, sindrom Reiter. Diagnosticul de

laborator al acestor infecții constă în izolarea și identificarea aceleiași serotip diareigen de *Salmonella* din probele de scaun ale pacienților și în alimentul contaminat consumat. În frotiul din materii fecale pot fi puse în evidență leucocite, mucus și eventual hematii.

Caracterul epidemic impune realizarea unei anchete care să permită precizarea sursei; sunt examinate probe de alimente incriminate pe baza indicelui de atac epidemiologic și probe de scaun de la persoanele implicate în manipularea și prepararea acestor alimente.

La nou-născut și sugar, mai ales la cei alimentați artificial, pot evolua gastroenterite acute febrile cu serotipuri non-tifice; doza infectantă mult mai redusă face posibilă transmiterea fecal-orală prin intermediul mâinilor contaminate ale persoanelor care îngrijesc acești copii, fiind posibile episoade epidemice cu caracter noso-comial. La cei cu forme severe de boală se administrează antibiotice permise la această vârstă și în raport de rezultatele antibiogrammei; în special serotipul Typhimurium a dezvoltat multirezistență la antibiotice.

(3) **Bacteriemii/septicemii cu localizări secundare.** La sugari, persoane în vârstă sau imunosupresați salmonellele non-tifice pot avea acces în sânge determinând localizări secundare în: meninge, articulații, os, plăci de aterom. Uneori acest tip de infecții evoluează fără fenomene digestive sau acestea pot urma manifestărilor sistemice.



11.2.4. Genul *Yersinia*

„Locuitorii fugeau unii după alții. Nu se ajutau între ei vecinii; nimeni nu se îngrijea de membrii familiei sale. Bolnavii rămăneau părăsiți. Acest flagel le împietrise inimile încât fratele își părăsea sora, unchiul nepoții, soția bărbatul; mai rău și aproape incredibil tatăl și mama fugeau de copiii lor.”

GIOVANNI BOCCACCIO (1313-1375), *Decameronul*

Denumirea genului este legată de numele bacteriologului francez Alexandre Yersin care a izolat pentru prima dată agentul etiologic al pestei în epidemia din Hong Kong la sfârșitul secolului XIX. Din acest gen fac parte 3 specii izolate din infecții la om: *Y.enterocolitica* și *Y.pseudotuberculosis* care determină boli cu poartă de intrare digestivă și *Y.pestis* transmisă prin intermediul puricelui șobolanului sau interuman pe cale respiratorie. Acestea prezintă o serie de caractere particulare față de ceilalți reprezentanți ai familiei *Enterobacteriaceae*: sunt cocobacili colorați bipolar (în special *Y.pseudotuberculosis* și *Y.pestis*), dezvoltă colonii cu diametru mai mic de 1 mm după incubare 24 ore la 37°C, având temperatura optimă de creștere la 28°C și sunt capabile să se multiplice la temperatura frigiderului (bacterii psihrotrofe). *Yersinia enterocolitica* și *Y.pseudotuberculosis* sunt imobile la 37°C dar mobile la temperaturi sub 30°C, cultivă pe medii selective cu săruri biliare, fiind lactozo-negative, sunt intens ureazopozitive. *Yersinia pestis* este imobilă, lipsită de urează.

Factori de patogenitate. Cele trei specii posedă factori de patogenitate comuni: (a) **proteina P1**, sub formă de fibrile la suprafața bacteriilor, codificată de un plasmid de virulență pYV, intervine în adezivitatea la celulele eucariote; (b) **proteine** din membrana externă, **Yops** (*Yersinia Outer Proteins*), ce corespund **antigenelor V și W**, codificate de

gene plasate pe același plasmid pYV, sintetizate numai la temperatura de 37°C, au un efect citotoxic, inhibitor al migrării PMN și fagocitozei; (c) **chelatori de fier**.

Yersinia enterocolitica și *Y.pseudotuberculosis* produc **invazine**, codificate plasmidic și cromosomal; în plus, *Y.enterocolitica* sintetizează la temperaturi sub 30°C o **enterotoxină** cu proprietăți identice cu enterotoxina TS de *E.coli*.

Yersinia pestis posedă o **capsulă** glicoproteică, antigenul F1, exprimată numai la temperatura de 37°C (sinteza are loc numai în organismul șobolanului sau omului, dar nu la purice), cu efect antifagocitar și imunogen; de asemenea produce o **coagulază** ce determină formarea de microtrombi și un **activator al plasminogenului** ce intervine în invazivitate și în distrugerea C3b de pe suprafața bacteriilor, cu efect antifagocitar.

11.2.4.1. *Yersinia pestis* este agentul etiologic al unei zoonoze reemergente numită pestă sau ciumă, care evoluează natural la rozătoare, transmisă accidental la om prin înțepătura puricelui infectat.

Patogenitate naturală și patogenie. După ce este aspirată odată cu prânzul de sânge provenit de la un animal infectat, *Y.pestis* se multiplică în tubul digestiv al ectoparazitului, blochează proventricolul și este apoi regurgitată în cursul prânzului următor, posibil la om. Majoritatea bacililor, care au pierdut capsula în organismul puricelui, sunt fagocitați și distruși în PMN; un număr redus, care ajung în macrofage nu pot fi omorâți în aceste celule și reușesc să-și resintetizeze capsula și alți factori de virulență, condiționați de temperatura de 37°C. Bacteriile încapsulate, eliberate în mediul extracelular rezistă la fagocitoza prin PMN și se răspândesc rapid de la poarta de intrare spre ganglionii limfatici regionali. Aceștia devin măriți de volum, extrem de dureroși, cu leziuni de periadenită hemoragică: **bubonul pestos** (CD 11-10). Fără un tratament cu antibiotice adecvat, infecția evoluează bacteriemic cu localizare la nivelul ficatului, splinei, pulmonului. Localizarea pulmonară determină o pneumonie extrem de severă, bolnavul putând transmite, în cursul tusei, bacilul ciumei la persoanele din anturaj.

Pesta bubonică are o incubatie de 2-6 zile și fără tratament mortalitatea este de 60-75%; pesta primitiv pulmonară are o incubatie mai scurtă, într-un interval de 3 zile putând surveni decesul la peste 90% din cazuri.

Imunitatea este asigurată de anticorpi specifici față de antigenul F1 și VW, care favorizează fagocitoza și distrugerea bacteriilor în PMN; mecanisme imune celulare sunt de asemenea implicate. Infecția naturală conferă o protecție solidă pentru o lungă perioadă de timp.

Diagnosticul de laborator este bacteriologic. Într-o primă etapă se examinează microscopic frotiuri din aspirat ganglionar și, după caz, sânge și spută. Prezența de cocobacili gram-negativi colorați bipolar constituie un criteriu orientativ rapid de diagnostic. Pe frotiurile colorate cu albastru de toluidină caracterele microscopice ale cocobacilului pestei sunt mai ușor de observat (CD 11-11, 11 bis). Un test rapid și specific este reprezentat de evidențierea directă a antigenului F1 prin testul de imunofluorescență. Din cauza infecțiozității deosebite, diagnosticul prin cultură sau inoculare la animale de laborator este rezervat numai laboratoarelor autorizate.

Terapia etiotropă este instituită în regim de urgență, pe baza datelor clinice, epidemiologice și a testelor rapide de laborator. Antibiotice de elecție sunt streptomicina sau gentamicina; tetracilinele, ciprofloxacina sau cloramfenicolul reprezintă antibiotice alternative. Recent în India au fost raportate tulpini rezistente la antibiotice, transferul genelor de rezistență fiind posibil în tubul digestiv al puricelui.

Epidemiologie. Pesta a determinat în Evul Mediu pandemii care au decimat mai mult de 1/3 din populația globului. Din 1845 această infecție a dispărut din Europa. În prezent

cazuri sporadice evoluează în zone geografice limitate din Africa, Asia sau America unde persistă focare naturale. Anual OMS raportează 1000-3000 cazuri de pestă pe glob. Ultimul episod epidemic a avut loc în India în 1994.

Rezervorul natural este reprezentat de rozătoare sălbatice la care transmiterea infecției are loc prin purici (pesta sălbatică); când rozătoarele sălbatice se întrepătrund cu cele peridomestice infecția poate evolua ca pestă urbană. Infecția la om survine în cursul unei epidemii de pestă urbană sau când acesta pătrunde într-un focar natural. Transmiterea are loc prin înțepătura puricelui sau pe cale digestivă consecutiv manipulării animalelor bolnave sau decedate. Transmiterea interumană este posibilă pe cale respiratorie.

În ultimul timp, în cadrul terorismului internațional, există pericolul ca *Y.pestis*, alături de *B.anthraxis* și virusul variolei, să fie folosite ca arme biologice.

Profilaxie. Măsurile nespecifice de deratizare și dezinsecție vizează rezervorul și modul de transmitere a infecției la om; persoanele suspecte vor fi izolate în condiții speciale, iar contactii vor primi profilactic antibiotice (doxiciclină sau ciprofloxacina). Vaccinarea este indicată persoanelor cu risc crescut de expunere; vaccinul inactivat care asigura o imunizare de scurtă durată a fost înlocuit cu un vaccin viu atenuat (tulpina avirulentă EV-76).

Pesta sălbatică este dificil sau imposibil de eliminat.

11.2.4.2. Yersinioze cu poartă de intrare digestivă sunt determinate de *Y.enterocolitica* și *Y. pseudotuberculosis*.

Patogenitate naturală și patogenie. *Yersinia enterocolitica* este al 4-lea agent etiologic bacterian, ca frecvență, al bolii diareice acute, după *Salmonella*, *Campylobacter* și *Shigella*. Determină infecții de tip invaziv cu localizare la nivelul porțiunii terminale a ileonului, în special la copii de 1-4 ani, după consum de alimente sau apă contaminate, care se manifestă cel mai frecvent cu febră, dureri abdominale, diaree. Când sunt interesați ganglionii mezenterici, ce se prezintă măriți de volum, apar în plus dureri în fosa iliacă dreaptă (sindrom pseudoapendicular). Consecutiv acestor infecții la adulți, într-un procent redus de cazuri, pot să apară artrite reactive sau eritem nodos. La imunosupresați infecția poate evolua septicemic. *Yersinia pseudotuberculosis* determină manifestări clinice asemănătoare, dar de regulă fără tulburări de tranzit; frecvența lor este mult mai redusă.

Diagnosticul de laborator al manifestărilor acute este **bacteriologic**. La cei cu diaree recurgem la coproculturi, după algoritmul folosit în shigeloze sau în salmoneloze. Examenul microscopic evidențiază prezența celulelor inflamatorii; însămânțarea poate fi realizată pe medii selective cu săruri biliare (MacConkey, ADCL) sau cu antibiotice (CIN – mediu cu cefsulodină, irgasan și novobiocină). În adenite mezenterice examinăm ganglioni prelevați intraoperator, după mojararea acestora realizându-se însămânțarea pe medii solide și lichide uzuale; examenul microscopic este rar pozitiv. Identificarea coloniilor foarte mici se realizează biochimic și serologic prin reacție de aglutinare pe lamă. În formele septicemice recurgem la hemoculturi. Diagnosticul **serologic** este indicat în manifestări extradigestive (artrite reactive, eritem nodos), putând fi utilizate diferite reacții Ag-Ac. Anticorpii aglutinanți cu specificitate de specie și serogrup apar după o săptămână de la debut și ating valori maxime la două săptămâni de boală, titrul semnificativ al acestora fiind de ≥ 160 . Sunt posibile reacții încrucișate cu *Salmonella* sau *Brucella*.

Principii de tratament etiotrop. *Yersinia enterocolitica* este natural rezistentă, prin mecanism enzimatic, la aminopeniciline și cefalosporine din generația 1. *Yersinia pseudotuberculosis* nu produce β -lactamaze. Tratamentul cu cefalosporine din generația 3 sau aminoglicozide se recomandă numai în forme severe de boală.

Epidemiologie. *Yersinia enterocolitica* și *Y.pseudotuberculosis* sunt prezente în intestinul animalelor și păsărilor; se elimină în număr mare prin fecale și contamenează astfel

solul și apele de suprafață. Dintre numeroasele serogrupe prezente la animale și în mediu extern, numai un număr limitat pot determina infecții la om (O3, O5, O8, O9); *Y. enterocolitica* O3 este cel mai frecvent izolată în zona noastră, rezervorul în acest caz fiind reprezentat în special de porc. Transmiterea la om are loc mai ales prin consum de alimente contaminate; conservarea prin refrigerare prelungită a acestora reprezintă un factor de risc, în aceste condiții *Y. enterocolitica* fiind capabilă să se multiplice. Transmiterea interumană fecal-orală este posibilă; de asemenea sunt menționate în literatură septicemii după transfuzii de sânge provenit de la un donator în fază bacteriemică.

Nu există profilaxie specifică a yersiniozelor digestive.

11.3. GENURI CARE INCLUD SPECII OPORTUNISTE

11.3.1. Genurile *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*

Produc în mod caracteristic acetoină, pusă în evidență prin reacția Voges-Proskauer. Speciile *Klebsiella* se particularizează prin caracterul imobil și prezența capsulei, vizibilă microscopic (CD 11-2). Alături de *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* fermentează lactoza (unele specii sunt lactozo-pozitive tardiv), aceste bacterii fiind cunoscute sub numele generic de bacili coliformi. Un număr limitat de specii din aceste genuri sunt de interes medical major: *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *S. marcescens*.

Klebsiella pneumoniae, prezentă mai rar în microbiota fecală comparativ cu *E. coli*, poate coloniza de asemenea mucoasa oro-faringiană mai ales la cei spitalizați sau tratați prelungit cu antibiotice cu spectru larg. Determină infecții urinare (în special serotipurile K8, 9, 10 și 24), pulmonare (serotipurile K1, 2), supurații ale plăgilor și arsurilor, infecții de cateter, meningite, septicemii cu un prognostic deosebit de sever. Aceste infecții frecvent au caracter nosocomial, favorizate de existența unor tare organice. Tulpini producătoare de enterotoxine au fost izolate de la copii cu diaree acută.

Izolarea din produse contaminate se realizează pe medii neselective și cu selectivitate redusă (MacConkey), criteriul de implicare, ca pentru orice bacterie oportunistă, fiind cel cantitativ. Coloniile cu aspect mucos (CD 11-3), lactozo-pozitive sunt identificate biochimic.

Rezistente natural la aminopeniciline, tulpinile de *K. pneumoniae* au o sensibilitate variabilă față de celelalte antibiotice active pe gram-negativi, tulpinile de spital fiind frecvent multirezistente. Rezistența câștigată față de ureidopeniciline și cefalosporine se datorează producerii de β -lactamaze cu spectru clasic sau cu spectru lărgit, inactivate de inhibitori ai acestor enzime (acid clavulanic, sulbactam, tazobactam).

Enterobacter cloacae și *E. aerogenes* se diferențiază de *K. pneumoniae* și alți lactozo-pozitivi prin teste biochimice; sunt mobili. Comensale ale intestinului la om, pot determina infecții oportuniste asemănătoare cu cele descrise pentru *K. pneumoniae*, în general mai puțin severe. Sunt natural rezistente la aminopeniciline și cefalosporine din generația 1, rezistența câștigată la celelalte antibiotice folosite în tratamentul infecțiilor cu bacili gram-negativi fiind variabilă. Pierderea sensibilității față de cefalosporine din generația 3 și 4 se poate datora β -lactamazelor cu spectru lărgit sau cefalosporinazelor cromosomale insensibile la inhibitori ai acestor enzime.

Serratia marcescens este un bacil gram-negativ mobil, lactozo-pozitiv tardiv, diferențiat biochimic de alte *Enterobacteriaceae*. Tulpinile din mediu extern produc un pigment roșu caracteristic, prodigiozina. Este larg răspândit în natură, fiind rar întâlnit în microbiota intestinală la om. Manifestă o rezistență remarcabilă la agenți fizici și chimici, putând să se multiplice în medii minimale nutritiv și să supraviețuiască în soluții antiseptice de amoniu cuaternar, clorhexidină. Mult timp privit ca un saprofit inofensiv, în prezent este

considerat un patogen oportunist, implicat mai ales în infecții nosocomiale: infecții urinare după manevre instrumentale, infecții respiratorii la cei cu ventilație pulmonară artificială, supurații ale plăgilor, infecții de cateter, septicemii grave la sugari după utilizare de soluții perfuzabile contaminate. Este natural rezistent la polimixine, aminopeniciline, cefalosporine din generația 1 și tetraciline. Tulpinile de spital au frecvent rezistență câștigată față de cefalosporine din generația 3 (prin producere de β -lactamaze cu spectru lărgit sau/și cefalosporinaze cromosomale) precum și față de alte antibiotice (aminoglicozide, fluorochinolone).

11.3.2. Genurile *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*

Includ bacili gram-negativi lactozo-negativi, mobili, care în mod caracteristic produc fenilalanin-dezaminază. Fac parte din microbiota intestinală la om și animale și de asemenea pot fi prezenți în mediu extern. Speciile *Proteus*, producătoare de H_2S , formează colonii asemănătoare cu *Salmonella* pe medii selective (Hektoen, ADCL), fiind necesară diferențierea biochimică a acestora prin teste de triaj; această departajare de enteropatogenii primari din familia *Enterobacteriaceae* se impune și pentru celelalte specii care cultivă sub formă de colonii lactozo-negative.

Aceste bacterii determină mai ales infecții urinare, *P.mirabilis* fiind cel mai frecvent implicat, în special la cei cu anomalii morfofuncționale ale aparatului urinar; producerea de urează, consecutiv cu alcalinizarea urinei, favorizează constituirea de calculi. La nou-născuți au fost raportate meningite cu aceeași specie. Infecții nosocomiale ale plăgilor operatorii sau arsurilor, pneumonii la cei cu respirație asistată solicită investigații epidemiologice. Fenomenul Dienes (CD 11-12) este un test facil care permite stabilirea identității tulpinilor *Proteus* izolate de la pacienții din aceeași secție de spital.

Sunt natural rezistente la polimixine și tetraciline, iar *P.mirabilis* în mod particular la nitrofurantoin. Sensibilitatea la celelalte antibiotice este variabilă, în raport de tulpină, antibioterapia fiind ghidată de rezultatele testărilor *in vitro*.

11.3.3. Alte enterobacteriacee oportuniste

Genul *Citrobacter* reunește bacterii comensale ale intestinului la om sau animale și de asemenea prezente în mediu extern. *Citrobacter freundii*, lactozo-pozitiv tardiv, izolat din materii fecale, trebuie diferențiat de *Salmonella*, având unele caractere comune biochimice și antigenice (pot da reacții fals pozitive cu seruri anti-Salmonella polivalente O și Vi). Pot determina ocazional infecții urinare și supurații diverse; *C.diversus* a fost semnalat în meningite și abcese cerebrale la nou-născuți. **Genul *Edwardsiella***, cu specia de interes medical *E. tarda* rar colonizează intestinul omului. Prezența sa se asociază frecvent cu boală diareică, fiind considerată un posibil agent etiologic al acestui sindrom. Pe mediul diferențial Hektoen sau ADCL dezvoltă colonii lactozo-negative cu H_2S , departajarea de *Salmonella* și *Proteus* fiind posibilă prin teste biochimice. Foarte rar a fost izolată la imunodepresați din meningite, osteomielite, abcese hepatice, septicemii.

„Cholera...Bacilul virgulă...Uneori e greu de a-î afla între cele multe alte bacterii din intestin, ceea-ce ne explică cum misiunea francesă nu a făcut nici o amintire despre această formă de bacili. Chiar Koch numai după multe cercetări și culturî a putut ajunge la rezultatul obținut de el.”

VICTOR BABEȘ, Cursul de Bacteriologie 1892

„Iubite tata,
...Am publicat ceva despre cholera în arhivul lui Virchow după sfatul lui Koch, dar lucrul nu este destul lucrat, nu știu pentru ce vre Koch ca se publicu lucru cât mai curat? ”

VICTOR BABEȘ, Berlin 31 Dec 1894

„Descoperirea *Helicobacter pylori* se adaugă altor descoperiri faimoase, ca, de exemplu microscopul și penicilina, pentru care o perioadă de timp adesea foarte lungă a existat între prima publicare și conștientizarea importanței sale.”

FRANCIS MÉGRAUD

12.1. FAMILIA VIBRIONACEAE

ROXANA FILIP

Familia *Vibrionaceae* reunește bacili gram-negativi încurbați. Genurile cu interes medical, *Vibrio*, *Aeromonas* și *Plesiomonas*, sunt monotriche sau lofotriche, iar în culturile pe medii solide pot sintetiza adițional flageli laterali mai scurți.

12.1.1. Genul *Vibrio*

În 1854, Pacini a descris un vibriion pe care l-a incriminat ca agent etiologic al holerei. Era același an în care John Snow a identificat legătura dintre apa de băut și holeră în cartierul londonez Soho. Robert Koch a confirmat etiologia bacteriană a holerei în 1884, când a izolat bacilul holerei din apele stătătoare, în cursul epidemiei din Calcutta.

Minidefiniție. Genul *Vibrio* este format din bacili gram-negativi, încurbați în virgulă. Mobili prin unul sau mai mulți flageli polari, au mișcări vii de rostogolire, de unde și numele genului (lat. *vibrio* mișcare rapidă încolo și înapoi, vibrație). Nepretențioși nutritiv, majoritatea speciilor cresc optim în medii cu 2-3% NaCl. Catalazo- și oxidazo-pozitivi, atacă glucoza fără formare de gaz. Sunt sensibili la agentul vibriostatic O/129.

Habitat. Sunt microorganisme acvatic. Speciile halofile (e.g., *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*) sunt limitate la apele marine, estuarine, costiere și lagunare. Cele non-halofile, ca *V. cholerae*, se răspândesc și în ape dulci la distanță de mediul marin. Prezența vibriionilor în apele dulci este tranzitorie.

În apele marine vibriionii există sub trei forme:

- (i) *Forma liberă* persistă cât are la dispoziție concentrații optime de nutrienți.
- (ii) *Forma epibiotică* este simbiotă asociată cu matricea chitinoasă a zooplanctonului, cu scoicile ș.a. Asocierea este asigurată de chitinază și proteine de legare la aminozaharuri pe care le produc vibriionii. Vibriionii epibionți sunt persistenți în mediul marin și eludează mai eficient decât vibriionii liberi bariera acidă gastrică.
- (iii) *Forma dormantă* este reprezentată prin microvibriionii și celulele viabile, dar necultivabile în condiții obișnuite.

Din numeroasele specii ale genului ne vor reține atenția *Vibrio cholerae*, iar vibriionii halofili îi vom exemplifica numai prin câteva specii mai importante pentru patologie.

12.1.1.1. *Vibrio cholerae*, serogrupele holerigene: O:1 și O:139

(1) **Habitatul** este cel particular vibrionilor non-halofili (☞ mai sus).

(2) **Caracterele microscopice** sunt cele ale genului (☞ minidefiniție).

(3) **Caractere de cultivare.** Cultivă pe medii uzuale, preferențial aerob, optim la 37°C și pH 8. Rezistența la pH alcalin (cultivă până la pH 9,5), toleranța la bilă și la o relativă salinitate folosesc pentru prepararea mediilor selective. Pe mediile de îmbogățire (e.g., apă peptonată cu pH 9,0) formează peliculă după 6-12 ore de incubare. Pe mediile selective (e.g., TCBS -*Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose*) formează după 18-24 ore colonii cu diametrul de 2-3 mm, turtite sau ușor convexe, netede, umede, transparente sau opace. Pentru că fermentează zaharoza, coloniile sunt galbene.

Caracterele biochimice diferențiază speciile de *Vibrio* iar între vibrionii holerigeni diferențiază două biovaruri: clasic și El Tor, numit după localitatea din peninsula Sinai unde era o stație de carantină pentru pelerinii spre Mecca.

(4) **Rezistența în mediul extern.** Vibrionii holerici sunt mult mai sensibili la acțiunea luminii solare decât majoritatea celorlalți germeni patogeni; mor în 10-12 ore. La pH 6,5 creșterea încetează, iar la pH 5,8 mor. Mor după 30 minute la 56°C căldură umedă; la 100°C sunt distruși instantaneu. Foarte sensibili la dezinfectantele uzuale.

(5) **Structura antigenică.** Vibrionii holerigeni aparțin serogrupului O:1 de *V. cholerae*. În cadrul acestui serogrup au fost descrise trei serotipuri definite prin factorii antigenici A, B și C: Ogawa (AB), Inaba (AC) și, rar izolat, Hikojima (ABC). Aceste serotipuri le regăsim în ambele biovaruri: clasic și El Tor. *Vibrio cholerae* O:139, recent recunoscut ca holerigen, este o mutantă a biovarului El Tor.

Antigenul H nu are interes practic.

(6) **Factori de virulență.** Vibrionii holerigeni posedă mai mulți factori de virulență: mobilitate, neuraminidază/mucinază, adevine, și, cel mai important, toxina. Toxina holerică este un heteropolimer format dintr-o subunitate A și 5 subunități B. Subunitatea A este un activator al adenilat-ciclazei și este slab imunogenă, probabil datorită similitudinii structurale cu o proteină *self*, activator fiziologic al enzimei. Subunitatea B, numită holeragenoid are afinitate pentru receptorul gangliozidic GM1 de pe membrana enterocitului (fig.6.2).

(7) **Patogenitate naturală și patogeneză.** Holera este o intoxicație acută a enterocitelor care urmează unei colonizări masive a intestinului cu vibrioni holerigeni. Patogenetic îi recunoaștem trei etape:

(i) Ingestia și depășirea barierei acide gastrice. Doza infectantă este de 10^8 - 10^9 vibrioni. Neutralizarea acidității gastrice prin ingestia a 2 g bicarbonat de sodiu scade doza infectantă de 1000X. Ingestia de apă contaminată, mai ales în sezonul cald, contribuie la realizarea dozei infectante prin vibrionii vehiculați și diluarea sucului gastric. Receptivitatea crescută la holeră au pacienții cu hipo- sau aclorhidrie gastrică.

(ii) *Neuraminidaza (mucinaza)* hidrolizează mucusul protector, care se elimină prin scaun, iar vibrionii aderă la enterocite și colonizează masiv mucoasa fără penetrare în celule, fără răspuns inflamator și, probabil, fără translocare în sânge.

(iii) *Enterotoxina holerică* determină creșterea concentrației intracelulare de AMP ciclic și stimulează secreția ionilor de Cl^- . Dezechilibrul ionic celular atrage pierderea de apă și electroliți (Na^+ , K^+) în lumenul intestinal. Această pierdere hidroelectrolitică provoacă diaree apoasă, deshidratare extracelulară intensă cu hemoconcentrație, șoc hipovolemic și acidoză metabolică.

Holera apare după incubatie de 2-5 zile și se manifestă prin diaree apoasă și vomă, pierdere hidroelectrolitică de cca 1 litru per oră. Scaunele sunt apoase, fără reacție inflamatorie, cu aspectul fierturii de orez în care plutesc flocoane de mucus. Bolnavii nu au

dureri abdominale, nici tenesme rectale, nici febră.

Formele clinice ale holerei variază ca gravitate de la formele hipertoxice, când moartea este posibilă înainte de apariția diareei (*holera sicca*), la formele moderate (mai multe scaune lichide pe zi timp de 1-15 zile) până la formele inaparente (colonizare asimptomatică a intestinului depistată numai prin coprocultură).

(8) Imunitatea conferită de trecerea prin boală nu depășește 2 ani. Rol protector au anticorpii IgA secretori, care previn colonizarea intestinului cu vibrioni și fixarea pe enterocit a toxinei.

(9) Diagnosticul de laborator. Singurul cu interes medical este diagnosticul bacteriologic, ca măsură urgentă. Coprocultura o facem din scaun sau, numai la nevoie, examinăm tampoane rectale.

Depistarea vibrionilor holerigeni din probele de scaun diareic nu pune probleme pentru că practic sunt singurele bacterii prezente și în număr enorm. Microscopia directă a preparatului umed și a frotiului colorat Gram sau, mai bine, microscopia bulionului de îmbogățire după câteva ore de incubare oferă rezultat prezumtiv: abundență de vibrioni gram-negativi foarte mobili cu mișcări de rostogolire.

Pentru izolarea vibrionilor holerigeni însămânțăm proba pe un mediu selectiv și pe unul de îmbogățire. La intervale de șase ore din pelicula de la suprafața bulionului de îmbogățire facem repicări pe mediu selectiv și examen microscopic.

Coloniile suspecte le testăm cu ser aglutinant anti-O:1. Aglutinarea pozitivă echivalează cu identificarea prezumtivă a *V. cholerae* serogrup O:1. Testele biochimice confirmă diagnosticul de specie apoi de biovar, iar aglutinarea cu seruri monospecifice precizează serotipul. Astăzi este necesară și aglutinarea de triaj cu ser anti-O:139.

(10) Elemente de terapeutică. Rehidratarea promptă, orală sau intravenoasă cu fluide și electroliți este crucială. Antibioticele nu sunt indispensabile; se poate administra tetraciclină, care reduce perioada de excreție a *V. cholerae* și implicit riscul de transmitere.

(11) Epidemiologie. Rezervor de infecție sunt bolnavii de holera, purtătorii asimptomatici, fructele de mare. Transmiterea holerei este fecal-orală prin elemente de mediu contaminate cu voma și scaunul bolnavilor sau purtătorilor: apă, alimente (risc major: legume consumate crude, fructe de mare, lapte nepasteurizat).

În colectivități holera evoluează endemic sau/și epidemic:

- Evoluția endemică este proprie regiunilor umede (delte, estuare, litoralul marin) cu mare densitate a populației din țări subdezvoltate.
- Evoluția epidemică se poate suprapune endemiei, dar tipic apare în zonele uscate cu populație care nu a mai cunoscut boală, deci lipsită de imunitate. Epidemiile sunt declanșate prin cazuri de import, mișcări de populație, pelerinaje. Mortalitatea în epidemii este în jur de 50%.

(12) Profilaxia. Holera a rămas una dintre cele trei boli cu regim internațional de carantină (☞ Capitolul 7.1.). Sunt necesare:

- Măsuri de igienă individuală și colectivă particulare întreruperii transmiterii fecal-orale a infecțiilor (☞ Capitolul 7.1.). Sunt dificil de aplicat în țările subdezvoltate și în cataclisme naturale ori sociale.
- Vaccinarea antiholerică. Vaccinul clasic inactivat cu administrare subcutanată asigură protecția pentru 6 luni la 50-60% din vaccinați. Noul vaccin cu administrare orală este compus din fracțiuni antigenice cu mai multe funcțiuni: una saturează receptorii pentru fixarea vibrionilor pe enterocite, alta stimulează formarea anticorpilor Ig A secretori, care acționează asupra vibrionilor în tranzit intestinal.
- Chimioprofilaxia vizează contactii care nu pot fi protejați de vaccin: imunitatea post-

Vibrioni, spirili și bacterii înrudite

vaccinală se instalează după 8 zile, în timp ce incubatia holerei este de 2-5 zile. Sunt utile sulfamide neresorbabile intestinal, nitrofuranii, tetraciline; toate cu riscul selectării de tulpini rezistente.

12.1.1.2. *Vibrio cholerae* non-holerigen

Numele abreviat al acestor vibrioni poate fi VNH sau, pentru că nu aglutinează cu serul anti-O:1, NAG. Determină sindroame holeriforme benigne prin colonizarea intestinului și secreția unei enterotoxine asemănătoare cu LT a tulpinilor ECET.

La pacienții debilitați pot produce infecții ale plăgilor, infecții otice, septicemii.

Rezervor de infecție sunt bolnavii și apele de suprafață non-saline.

12.1.1.3. Vibrionii halofili

Necesită pentru creștere o concentrație de cel puțin 2% NaCl.

Vibrio parahaemolyticus se găsește în apele estuarine, asociat cu zooplanctonul și colonizează exoscheletul chitinos al crustaceelor. În zonele temperate, supraviețuiește iarna prin cufundare în sedimentul oceanic și în sezonul cald este încorporat în lanțul trofic și eventual crește în fructele de mare și pești.

Produce o citotoxină termostabilă. Determină toxiinfecții alimentare. Ocazional, infectează plăgi și arsuri la înotători, lucrătorii din docuri și bucătarii de fructe de mare. În gastroenterite, principală este compensarea pierderii de lichide. În toate formele infecției sunt utile tetraciclinele.

Profilaxia impune prelucrarea adecvată a fructelor de mare; refrigerare în timpul transportului și conservării, temperaturi suficient de ridicate pentru gătit.

Vibrio vulnificus, *V. alginolyticus* și mai rar alte specii infectează plăgile deschise cu posibilă evoluție la gangrenă în câteva zile. Poate contamina fructele de mare. Ingestia de scoici determină o gastroenterită care nu se diferențiază de alte tipuri de gastroenterite. Infecția poate avea o evoluție sistemică, în special la indivizii cu boli hepatice sau alte boli cronice (renale, cardiace, diabet, imunodepresie). Forma septicemică este asociată cu o mortalitate de 50%.

12.1.2. Genul *Aeromonas*

Genul *Aeromonas* (gr. *aer* aer, gaz; gr. *monas* unitate, monadă; monadă producătoare de gaz, referitoare la fermentarea carbohidraților) reunește bacili gram-negativi, mobili printr-un unic flagel polar. Sunt facultativ anaerobi, nepretențioși nutritiv. Fermentează zaharurile cu sau fără producere de gaz. Cresc independent de concentrația salină a mediului și sunt inhibați la concentrația de 6% NaCl. Sunt rezistenți la agentul vibriostatic O/129. La identificarea preliminară, aeromonadele pot fi confundate cu unele *Enterobacteriaceae*, de care se deosebesc însă fiind oxidazo-pozitive.

Aeromonadele sunt curent izolate din apele dulci (râuri, lacuri, fântâni, rezervoare de apă) unde în sezonul cald se pot înmulți. Colonizează intestinul peștilor, batracienilor, reptilelor și unor vertebrate superioare. Contaminează frecvent solul și produsele agricole.

Genul *Aeromonas* are specii psihrofile și specii mezofile. Câteva specii mezofile (e.g., *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*) sunt cu interes medical pentru că sunt implicate în trei categorii de infecții umane:

(i) Un sindrom holeriform determină tulpinile enterotoxigene mai frecvent la copii sub vârsta de 5 ani și în sezonul estivo-autumnal (în relație cu contactele hidrice).

(ii) Infecții ale plăgilor, probabil, după contactul cu apa și solul.

(iii) Infecții septicemice la pacienții imunocompromiși (e.g., leucemie, ciroză hepatică). Aceste infecții sistemice sunt endogene, provocate de tulpini găzduite în intestin.

Speciile de *Aeromonas* sunt rezistente la penicilina G, amino- și carboxipeniciline ori sulfamide. Sunt sensibile la ureidopeniciline, cefalosporine din generația a 2-a și a 3-a, aminoglicozide, tetracicline, cloramfenicol și asociația sulfametoxazol-trimetoprim. În diareea determinată de *Aeromonas*, principală este reechilibrarea hidroelectrolitică. Sindromul este autolimitat, dar tratamentul antibacterian îi scurtează evoluția.

12.1.3. Genul *Plesiomonas*

Plesiomonas (gr. *plesios* vecin; gr. *monas* unitate, monadă; monadă înrudită cu *Aeromonas*) este un gen cu o singură specie: *P. shigelloides* (atributul de specie provine din asemănarea unor tulpini cu shigelele).

Plesiomonas shigelloides este frecventă în apele dulci și estuarine poluate fecal. Concentrațiile realizate sunt dependente de temperatura ambiantă. Sub 8°C nu se mai multiplică. Deși izolată de la mai multe animale acvatice și găzduită în intestinul unor animale cu sânge cald (mamifere, păsări), numai în condiții de promiscuitate poate coloniza, tranzitoriu, intestinul copiilor.

Ocazional determină boală diareică acută și rar septicemii ori meningite. Meningitele sunt în special neonatale contractate la trecerea prin vaginul colonizat cu această bacterie.

Sensibilitatea la antibiotice este similară cu a speciilor de *Aeromonas* implicate în infecțiile umane.

12.2. SPIRILI

OLIVIA DORNEANU

Spirili sunt bacili gram-negativi helicoizi. Aparțin mai multor genuri dintre care ne oprim la *Campylobacter* și *Helicobacter* pentru frecvența cu care sunt implicați în infecții ale omului.

12.2.1. Genul *Campylobacter*

Minidefiniție. Genul *Campylobacter* (gr. *kampylos* încurbat) cuprinde bacili gram-negativi mici, nesporulați, în formă de virgulă, de S sau a „aripilor de pescăruși în zbor”, mobili – flageli polari. Majoritatea speciilor sunt microaerofile, necesitând atmosferă cu concentrație scăzută de oxigen și crescută de hidrogen și CO₂. Cresc relativ lent la 37-42°C pe medii de cultură special îmbogățite. Nezaharolitici, produc oxidază.

Există 18 specii și subspecii; 13 au fost asociate cu boala la om. Infecțiile produse de *Campylobacter* sunt în principal gastroenterite și septicemii. *Campylobacter jejuni* și *C. coli* sunt cauze importante de gastroenterită, la fel ca și *C. upsaliensis*. *Campylobacter fetus* produce infecții sistemice: bacteriemie, tromboflebită septică, artrită, avort septic, meningită. Alte specii sunt implicate în infecția mixtă a bolii periodontale.

(1) Habitat. Rezervorul de infecție pentru campilobacterioze sunt animalele. În afară de animale utilizate de om pentru hrană (e.g., găini, vite, oi, porci), *Campylobacter* spp. pot fi prezente și la animale domestice de companie. Omul pare a fi singurul rezervor recunoscut pentru patogenii periodontali.

(2) Caracterele microscopice tipice au fost precizate în minidefiniție. În culturi vechi sau culturi expuse la aer produce forme sferice ori cocoide. Mobilitatea este asigurată de un flagel polar, la unul sau ambele capete. Bacterii subțiri, sunt dificil de observat în produse patologice.

(3) Caractere de cultivare. Majoritatea speciilor cultivă mai bine în atmosferă cu

Vibrioni, spirili și bacterii înrudite

concentrație scăzută de oxigen (5-7%) și crescută de CO₂ (5-10%). *Campylobacter jejuni* cultivă mai bine la 42°C decât la 37°C. Aceste proprietăți sunt utilizate pentru izolarea selectivă a speciilor patogene din materii fecale.

Identificarea preliminară a izolatelor se bazează pe creșterea în condiții selective și caracterelor microscopice tipice. Identificarea definitivă se bazează pe studiul caracterelor biochimice, creșterea la 42°C, sensibilitatea la acid nalidixic și cefalotin.

(4) Rezistența în mediul extern. *Campylobacter* spp. sunt distruse după expunere la acizi. Probele de materii fecale trebuie prelucrate în interval de 2 ore; dacă sunt recoltate pe mediu de transport Cary Blair, pot fi refrigerate la 4°C dacă nu pot fi prelucrate imediat.

(5) Structura antigenică. *Campylobacter* spp. au un perete gram-negativ tipic. Antigenul major al genului este lipopolizaharidul membranei externe. În plus, antigenul somatic O, antigenul capsular termolabil și antigene flagelare au fost utilizate ca marcheri epidemiologici ai izolatelor clinice.

(6) Factori de virulență. Au fost evidențiate adevine, citotoxine, enterotoxine ale *C. jejuni*. Proteina S a *C. fetus* inhibă legarea C3b și deci, fagocitoza mediată de complement și bacterioliza. Sindromul Guillain-Barré este o boală autoimună datorată reactivității încrucișate între oligozaharidele capsulare și glicosfingolipidele de pe suprafața neuronilor.

(7) Patogenitate naturală și patogenie. Doza infectantă este de minim 1000 bacterii ingerate. Infecția este favorizată de condiții care neutralizează sau scad secreția acidă gastrică. Statusul imun al pacientului condiționează severitatea bolii. Pacienți cu hipogamaglobulinemie fac infecții cu *C. jejuni* severe, prelungite. Persoanele din zone endemice dezvoltă încă la vârste mici titruri detectabile de anticorpi serici și anticorpi secretori și fac forme ușoare de boală.

Infecția intestinală este invazivă. Prin mobilitate, *Campylobacter* colonizează întâi stratul de mucus intestinal, apoi invadează și/este translocat prin epiteliu către țesuturile subjacente, unde sunt elaborați alți factori de virulență (e.g., citotoxina letală). Suprafața mucoasei jejunului, ileonului și colonului apare ulcerată, edemațiată, sângerândă, cu abcese ale glandelor epiteliale și infiltrat cu neutrofile, mononucleare și eozinofile în lamina propria. Rolul exact al toxinelor citopatice, enterotoxinelor și endotoxinei detectate la *C. jejuni* nu este cunoscut. Tulpini lipsite de enterotoxină își păstrează virulența. Tulpini lipsite de adezină sau imobile sunt avirulente.

Infecțiile gastrointestinale cu *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* se manifestă ca enterită acută cu sindrom dizenteriform. Infecția este, în general, autolimitată, deși simptomele pot persista și mai mult de o săptămână. Infecția se poate croniciza.

Campylobacter jejuni (anumite serotipuri, e.g., *C. jejuni* serotip O:19) și *C. upsaliensis* au fost asociate cu sindromul Guillain-Barré, o boală autoimună a sistemului nervos periferic. Anticorpi specifici anti-*Campylobacter* lezează țesutul nervos periferic prin legarea la glicosfingolipide de pe suprafața neuronilor.

Infecția cu *C. fetus* debutează cel mai frecvent ca o gastroenterită, urmată de septicemie cu diseminare în mai multe organe. Aceasta se întâmplă mai ales la pacienți debilitați și imunocompromiși, cum sunt cei cu boli hepatice, diabet zaharat, alcoolism cronic, tumori maligne.

(8) Imunitatea. Anticorpii IgA și IgM apar în primele 10 zile după debutul infecției și scad rapid, în 1-2 săptămâni. Cei IgG apar cam în același interval de timp, dar persistă săptămâni sau luni.

(10) Diagnosticul de laborator. Materiile fecale sunt produsul patologic preferat pentru diagnosticul infecțiilor gastrointestinale. *C. fetus*, *C. jejuni*, *C. upsaliensis* au fost izolate și din sânge.

Microscopia. *Campylobacter* poate fi observat cu dificultate pe froțiul din materii

fecale datorită diametrului său redus (0,3 μm). Apar cu morfologia tipică genului (CD 12-1).

Cultivarea. Mediile selective pentru izolarea *Campylobacter* din produse patologice contaminate trebuie să conțină sânge sau cărbune pentru a îndepărta radicalii toxici de oxigen și antibiotice (e.g., cefoperazonă) pentru inhibarea contaminanților. *Campylobacter* sunt specii microaerofile, carboxifile, termofile. Cultivă lent, necesitând minim 48-72 ore de incubare. *Campylobacter fetus* nu crește la 42°C, dar este microaerofil.

(11) Elemente de terapie etiotropă. Gastroenterita cu *Campylobacter* este o infecție autolimitată, controlată doar prin înlocuirea pierderilor de lichide și electroliți. Trebuie administrate antibiotice la pacienți cu infecții severe sau septicemie. Eritromicina este antibioticul de elecție în tratamentul enteritei, iar doxiciclina și fluorochinolone, alternative. Rezistența la fluorochinolone este în creștere. Asociația amoxicilină + acid clavulanic poate înlocui tetraciclina la copii. Infecțiile sistemice sunt tratate cu aminoglicozide, cloramfenicol sau imipenem.

(12) Epidemiologie. Infecțiile cu *Campylobacter* sunt zoonotice, o gamă largă de animale servind ca rezervor de infecție. Omul se infectează cu *C. jejuni* și *C. coli* după consum de alimente, lapte sau apă contaminate. Carnea de pui contaminată este responsabilă pentru mai mult de 50% din infecțiile cu *Campylobacter*. Infecțiile cu *C. upsaliensis* sunt contractate după contactul cu câini domestici (cu diaree sau purtători sănătoși). Alimentele care scad aciditatea gastrică (e.g., lapte) reduc doza infectantă. Poate apărea și transmitere fecal-orală de la om la om.

În țările dezvoltate infecțiile cu *Campylobacter* spp. sunt mai frecvente decât cele cu *Shigella* și *Salmonella* împreună. Boala apare pe tot parcursul anului, dar este mai frecventă în lunile călduroase. Incidența este mai crescută la adulți tineri și copii. Adulții pot fi purtători asimptomatici.

Campylobacter fetus determină infecții sporadice mai ales la persoane în vârstă, imunocompromise.

(13) Profilaxie. Expunerea la specii enterice de *Campylobacter* este evitată prin prepararea adecvată a alimentelor (în special preparate din pui), evitarea produselor lactate nepasteurizate, prevenirea contaminării surselor de apă. Este improbabilă eliminarea portajului la animale (pui, curcani).

12.2.2. Genul *Helicobacter*

Primele bacterii spiralate au fost semnalate în biopsii gastrice încă din 1907 de Krienitz în Germania. Este meritul australienilor J.R. Warren de a fi sistematizat aceste descoperiri histopatologice și a lui B.J. Marshall de a fi izolat în 1982 din probele de biopsie gastrică această bacterie spiralată pe care a numit-o inițial *Campylobacter pyloridis* și de a-i fi determinat rolul etiologic în gastrite, reproducând postulatele lui Koch pe propria persoană. A ingerat cultura bacteriei, a făcut gastrită și s-a vindecat prin terapie cu ampicilină.

Minidefiniție. Genul *Helicobacter* este format din bacili gram-negativi încurbați până la helicați, mobili prin unul sau mai mulți flageli dispuși lofotrich, amfitrich sau lateral. Microaerofili, nu cresc la 25°C, iar creșterea unor specii este stimulată de hidrogen. Sunt azaharolitici, oxidază și catalază pozitivi. Speciile gastrice de *Helicobacter* produc urează în cantități mari.

(1) Habitat. Specii de *Helicobacter* au fost izolate din tractusul gastrointestinal și cel hepatobiliar al mamiferelor și păsărilor. **Speciile gastrice** se găsesc în stomac în sau sub stratul de mucus adiacent epiteliului și invadează rar torrentul circulator. *Helicobacter pylori* colonizează cardia, corpusul și antrumul stomacului. Poate fi găsit tranzitoriu și în arii de metaplazie gastrică a intestinului subțire. Adeseori se găsește în cavitatea bucală a indivizilor infectați (placa dentară, salivă). Prin metode de biologie moleculară a fost depistat și în apa de robinet. *Helicobacter pylori* infectează natural și alte mamifere (e.g., pisici). *Helicobacter*

Vibrioni, spirili și bacterii înrudite

heilmannii se găsește în stomacul omului și al altor mamifere. **Specii enterohepatice** de *Helicobacter* colonizează tractul intestinal și hepatobiliar al mamiferelor și păsărilor. *Helicobacter cinaedi* și *Helicobacter fennelliae* au fost izolate de la homosexuali cu proctită, proctocolită sau enterită.

(2) Caractere microscopice. Bacili gram-negativi spiralați sau încurbați, nesporulați. În culturi bătrâne apar forme sferice sau cocoide. Sunt foarte mobili (mișcări de înșurubare) prin flageli bipolari multipli. *Helicobacter pylori* este lofotrich.

(3) Caractere de cultivare. *Helicobacter pylori* și alte specii de *Helicobacter* necesită un mediu de cultură complex, suplimentat cu sânge, ser, cărbune, amidon sau gălbenuș de ou, incubat în condiții microaerofile (5-10% O₂ și 5-12% CO₂, 5-10% H₂), la 30-37°C. Creșterea apare după 3-6 zile. Coloniile sunt translucide cu diametrul de 1-2 mm. Diferențierea speciilor o facem biochimic.

(4) Rezistența în mediul extern. Relativ rezistent în mediul extern. Probele de biopsie gastrică trebuie transportate la laborator în maxim 2 ore, în mediu de transport, pentru a preveni desicarea.

(5) Factori de virulență.

- Urează – neutralizează aciditatea gastrică; stimulează chemotaxia monocitelor, a neutrofilelor și producerea de citokine inflamatorii.

- Proteina șocului termic – crește activitatea ureazei.

- Proteină inhibitoare de acid – induce hipoclorhidrie în timpul infecției acute prin blocarea secreției acide de către celulele parietale.

- Flageli – permit penetrarea în mucusul gastric și protejează astfel bacteria de mediul acid.

- Adezine – mediază legarea la celula gazdă.

- Mucinaza – lizează mucusul gastric.

- Fosfolipaze citotoxice.

- Superoxid dismutaza – neutralizează superoxidul iar catalaza neutralizează peroxizii.

Astfel ambele enzime previn efectul bactericid intrafagocitar.

- Citotoxina vacuolizantă – induce vacuolizare în celulele epiteliale; stimulează migrarea neutrofilelor în mucoasă.

(6) Patogenitate naturală și patogenie. Colonizarea mucoasei gastrice cu *H. pylori* este facilitată de proteina inhibitoare de acid și neutralizarea acidității gastrice prin amoniac produs de ureaza bacteriană. Activitatea ureazei este crescută în prezența unei proteine a șocului termic, care este coexprimată împreună cu ureaza pe suprafața bacteriei. *Helicobacter pylori*, foarte mobil, poate apoi trece prin stratul de mucus și adera la celulele epiteliale. Leziunile tisulare localizate sunt mediate de produșii rezultați din acțiunea ureazei, de mucinază, fosfolipaze, citotoxina vacuolizantă, care, împreună cu ureaza și lipopolizaharidul bacterian, stimulează procesul inflamator. *Helicobacter pylori* este protejat prin superoxid dismutază și catalază de efectul bactericid intrafagocitar. *Helicobacter pylori* mai produce factori care stimulează: 1) secreția de IL-8, 2) producerea unui factor activator plachetar care determină hipersecreția de acid gastric; 3) apoptoza celulelor epiteliului gastric.

Numeroase date clinice dovedesc că *H. pylori* este agentul etiologic al tuturor cazurilor de gastrită B: 1) o asociere de aproape 100% între gastrită și această infecție; 2) producerea unei infecții experimentale atât la animal, cât și la om; 3) vindecarea leziunilor după eradicarea infecției consecutivă terapiei specifice. Actualmente *H. pylori* este acceptat drept cauză a majorității ulcerelor gastrice și duodenale; eliminarea bacteriei duce la vindecarea ulcerelor și reduce semnificativ rata recurențelor.

Gastrita cronică este un factor de risc pentru carcinomul gastric. Există o corelație

între infecția cu *H. pylori* și adenocarcinomul corpului sau antrumului stomacului, dar nu și a cardiei (arie a stomacului care nu este infectată cu *H. pylori*). Colonizarea cu *H. pylori* este de asemenea asociată cu limfomul gastric cu celule B. Terapia specifică anti-*H. pylori* duce la regresia acestui limfom.

Colonizarea cu *H. pylori* pare a proteja împotriva refluxului gastro-esofagian și a adenomului segmentului inferior al esofagului. De aceea, infecția cu *H. pylori* nu trebuie tratată la pacienți asimptomatici.

Helicobacter cinaedi și *H. fennelliae* determină gastroenterită și proctocolită însoțită de septicemie la bărbați homosexuali. *H. cinaedi* produce și celulită recurentă cu febră și bacteriemie la pacienți imunocompromiși.

(7) Diagnosticul de laborator. Produsul patologic de elecție este biopsia gastrică.

Microscopia. *Helicobacter pylori* este depistat în secțiuni histologice ale biopsiilor gastrice. Deși poate fi observat în frotiuri colorate cu hematoxilin-eozină sau Gram, colorația cea mai sensibilă este Warthin-Starry. Sensibilitatea și specificitatea examenului microscopic se apropie de 100% (CD 12-2).

Testul ureazei. Este calea cea mai rapidă de a depista *H. pylori*. Activitatea ureazei poate fi măsurată direct în produs patologic sau după izolarea bacteriei. Cantitatea mare de urează produsă de *H. pylori* permite depistarea ei în mai puțin de 2 ore. Sensibilitatea testului direct, pe biopsie gastrică este 75-95%; specificitatea de aproape 100% permite stabilirea unei infecții active în cazul unui test pozitiv (CD 12-3).

Cultivarea. *Helicobacter pylori* crește doar în atmosferă microaerofilă pe medii îmbogățite suplimentate cu sânge, hemină sau cărbune. Suplimentarea mediului protejează bacteria de radicali de oxigen liber, peroxid de hidrogen și acizi grași. Pentru creșterea sensibilității cultivării trebuie prelucrate mai multe probe de biopsie gastrică. Sensibilitatea izolării crește de asemenea prin utilizarea mediilor selective cu antibiotice (e.g., vancomicină, acid nalidixic, amfotericină).

Serologie. Infecția cu *H. pylori* stimulează un răspuns imun umoral care persistă ca urmare a expunerii continue la agentul etiologic. Deoarece titrul anticorpilor persistă ani, testul nu poate fi utilizat pentru a diferenția o infecție trecută de una curentă. Titrul anticorpilor nu se corelează cu gravitatea infecției sau cu răspunsul la terapie. Serologia este utilă doar pentru studii epidemiologice sau pentru evaluarea inițială a unui pacient simptomatic.

Testul respirației cu uree este o metodă neinvazivă care depistează CO₂ marcat radioactiv în aerul expirat, după administrare de uree [¹³C].

(8) Elemente de terapie etiotropă. Cea mai mare rată de vindecare a gastritei și ulcerului peptic a fost obținută cu o combinație între un inhibitor al pompei de protoni (e.g., omeprazol) și unul sau mai multe antibiotice. Poate fi adăugat bismut. Tratamentul de elecție este cu omeprazol, amoxicilină și claritromicină; cel alternativ – bismut, tetraciclină, metronidazol și omeprazol.

Infecțiile produse de *H. cinaedi* și *H. fennelliae* sunt tratate cu ampicilină sau gentamicină.

(9) Epidemiologie. Cea mai mare incidență este întâlnită în țările în curs de dezvoltare, unde 70-90% din populație este colonizată, majoritatea înainte de vârsta de 10 ani. Dintre pacienții cu gastrită, ulcer gastric sau duodenal 70-100% sunt infectați cu *H. pylori*.

Rezervorul primar de infecție pentru *H. pylori* este omul; transmiterea este cel mai frecvent fecal-orală. De aceea, riscul colonizării scade cu îmbunătățirea standardului de igienă.

(10) Profilaxie. Se fac eforturi pentru obținerea unui vaccin împotriva *H. pylori*. Ureaza și proteina șocului termic pot fi utilizate ca antigene deoarece sunt exprimate unic pe suprafața bacteriei.

Termenul de pseudomonadă (gr. *pseudes*, fals; gr. *monas*, o unitate, monadă) în sens larg subliniază o falsă concepție referitoare la organisme unicelulare inferioare care ar face trecerea de la plante la animalele cele mai simple. Nu are semnificație taxonomică, grupează doar o serie de bacili gram-negativi ubicuitari în apă, sol, vegetale, care au în comun doar câteva caractere biologice.

Minidefiniție. Pseudomonadele sunt bacili gram-negativi, nesporulați, dreپți sau ușor încurbați. Cu excepția unei singure specii, *Burkholderia mallei*, sunt mobili prin unul sau mai mulți flageli polari. Unele specii dezvoltă flageli laterali. Nepretențioși nutritiv și strict aerobi. Pot respira nitriții. Au metabolism oxidativ, sunt catalazo-pozitivi și cel mai frecvent oxidazo-pozitivi.

Specii cu interes medical găsim mai ales în genurile *Pseudomonas*, *Burkholderia* și *Stenotrophomonas*.

13.1. PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Această specie este numită comun bacilul piocianic. Denumirea de *Bacterium aeruginosum* a fost dată de Schroeter (1872), care a denumit germenul după aspectul culturii sale (lat. *aeruginosus*, plin de rugina verde a cuprului). Bacilul piocianic a fost mai bine cunoscut de abia de la Gessard (1882) care l-a izolat dintr-un puroi albastru și a identificat pigmentul albastru, piocianina, și galben verzui fluorescent, fluoresceina, produși de bacterie.

(1) Habitat. *Pseudomonas aeruginosa* este ubicuitară. O găsim în apă, sol, vegetale, ceea ce îi permite supraviețuirea și multiplicarea pe suprafețe umede. Este frecvent întâlnită în mediul de spital în soluțiile apoase ale antisepticelor sau medicamentelor, în produsele biologice sau în resturile alimentare, flori tăiate, sistemele de aerare, chiuvete, băi pentru hidroterapie, echipamente de reanimare respiratorie; pe suprafața legumelor și fructelor – de aceea, pacienții imunocompromiși trebuie să consume aceste alimente după tratament termic, deoarece are loc colonizarea tractusului digestiv cu *P. aeruginosa* și bacteriemie. În plus, *P. aeruginosa* poate fi găsit în apa de piscină, soluțiile pentru lentile de contact, produse cosmetice.

(2) Caractere microscopice. Colorația Gram nu permite diferențieri între bacilii gram-negativi nefermentativi; sunt bacili fini, dispuși izolat, în perechi sau scurte lanțuri (CD 13-1); în culturile tinere, prezintă forme filamentoase, iar pe mediile cu antiseptice și în culturile

vechi, forme de involuție (filamente ondulate, bacili în formă de virgulă, coci în lanțuri scurte). Formele bătrâne apar granulate.

(3) Caractere de cultură. *Pseudomonas aeruginosa* este nepretențioasă nutritiv, crește și în apă distilată, strict aerobă și psihrotrofă. Se dezvoltă între 5 și 42°C cu optimul activității metabolice între 30 și 37°C. Disociază spontan intracloal cu formare de colonii mici până la mari cu tendință de invadare a mediului. Coloniile tulpinilor care produc alginat sunt consistente, gelatinoase. Cultura degajă o aromă pătrunzătoare de flori de tei sau iasomie. Produce doi pigmenți difuzibili: unul albastru, piocianina, și unul galben-verde fluorescent, pioverdina (CD 13-2). Unele tulpini produc pigment roșu sau brun. Tipic culturile au luciu metalic și frecvent sunt presărate cu mici plaje de liză pentru că sunt lizogene. Pe geloză-sânge coloniile sunt hemolitice (CD 13-3).

Studiul caracterelor biochimice permite diferențierea speciilor de *Pseudomonas* între ele și de alte pseudomonade.

(4) Rezistența în mediul extern. *Pseudomonas aeruginosa* este omorâtă într-o oră la 55°C. Supraviețuiește mai multe luni în apă la temperatura mediului ambiant și se multiplică în apă cu conținut nutritiv minimal. Rezistă parțial la compuși cuaternari de amoniu, în particular la cetrimid, care se inactivează rapid după stocare prelungită. A fost izolat din săpun și creme cosmetice cu hexaclorofen și din soluții de povidon-iodin și clorhexidină. Este sensibil în mediu acid și la săruri de Ag, ceea ce explică utilizarea acestora în tratamentul infecțiilor la pacienții cu arsuri. Bacilul piocianic se particularizează prin rezistența naturală și dobândită la multiple substanțe antibacteriene.

(5) Structura antigenică. *Pseudomonas aeruginosa* posedă o varietate de antigene: antigenul O, lipopolizaharid localizat în peretele bacterian; nu este strict specific și prezintă înrudiri cu al altor specii gram-pozitive și gram-negative; antigenul flagelar H, de natură proteică, are determinanți comuni cu antigenele fimbriale. Substanța mucoidă extrasă din coloniile mucoase, frecvent întâlnite în infecții cronice ale tractusului respirator la pacienții cu fibroză chistică, are o compoziție chimică asemănătoare cu acidul alginic găsit în algele marine.

(6) Factori de virulență. *Pseudomonas aeruginosa* posedă numeroși factori de virulență; individual dificil de definit. Probabil virulența acestei bacterii este multifactorială (tabelul 13-1).

(7) Patogenitate naturală și patogenie. Deși s-au descris numeroși factori de virulență la *P. aeruginosa*, nici unuia nu i se poate atribui rolul principal în patogenia infecției. Factorul gazdă are o deosebită importanță în declanșarea infecției. Condițiile care favorizează apariția infecției sunt:

- prezența a numeroase surse de infecție în mediul extern și în mediul de spital;
- existența unor categorii de organisme extrem de receptive la infecția cu *P. aeruginosa*: nou-născuți cu anomalii congenitale, sugari și copii distrofici, bolnavi cu neoplazii sub tratament cu citostatice sau radioterapie, pacienți cu fibroză chistică, pacienți cu plăgi diverse sau arsuri;
- extinderea investigațiilor invazive pentru diagnostic și tratament care lezează integritatea pielii și a mucoaselor;
- utilizarea nerațională a antibioticelor și chimioterapicelor, care fac posibilă selectarea unor tulpini multirezistente.

Infecții determinate: Infecții pulmonare, colonizare asimptomatică sau traheobronșită acută; infecții ale pielii, ale plăgilor și arsurilor, foliculită, după macerarea epidermei prin menținerea prelungită a mâinilor în apă contaminată; infecții ale tractusului urinar la cateterizați sau pacienții tratați cu antibiotice; infecții otice – otită externă: urechea de înotător –, otita externă malignă la diabetici și vârstnici poate progresa la oasele craniene, infecții oculare după traumatism cornean; bacteriemii și endocardite; alte infecții:

Pseudomonade, acinetobacterii și alți bacili gram-negativi

gastrointestinale, ale sistemului nervos central și musculo-scheletal.

Tabelul 13-1 Factori care contribuie la virulența bacilului piocianic

Factor de virulență	Efect
Componente structurale	
Capsula	Adezină; previne pătrunderea antibioticelor spre țintele de acțiune; deprimă activitatea neutrofilelor și limfocitelor
Pili	Adeziune
LPS	Activitate endotoxinică
Substanțe elaborate	
Piocianină	Afectează funcția cililor, stimulează răspunsul inflamator, mediază distrucția tisulară prin producerea radicalilor toxici (peroxid, superoxid)
Exotoxina A	Inhibă sinteza proteică, imunosupresie, lezarea țesuturilor
Exotoxina S	Inhibă sinteza proteică, imunosupresie
Citotoxina	Citotoxică pentru membrana eucariotă
Elastaze	Distrugerea țesuturilor care conțin elastină (pulmon, piele), collagen, sânge și factori ai complementului
Alcalin proteaza	Distrugerea tisulară, inactivarea interferonului și al TNF α
Fosfolipaza C	Hemolizină termolabilă; mediază distrugerea tisulară, stimulează răspunsul inflamator
Ramnolipid	Hemolizină termostabilă, distruge țesuturile care conțin lecitină; inhibă activitatea cililor epiteliului respirator

(8) **Imunitatea.** Este asigurată de anticorpii antilipopolizaharidici, antiproteaze și antitoxici, care protejează față de efectul letal al infecției cu bacil piocianic.

(9) **Diagnosticul de laborator. Cultura:** cultivă pe medii uzuale. Izolarea din prelevat necontaminate o facem pe geloză cu 5% sânge. Pentru prelevatele contaminate sunt indicate medii cu selectivitate joasă (e.g., agar MacConkey). **Identificare:** morfologia coloniei: mărime, activitate hemolitică, pigment, miros. Testul oxidazei pozitiv și cultivarea la 42°C sunt teste necesare pentru identificarea tulpinilor neproducătoare de piocianină.

(10) **Terapie etiotropă.** Izolatele comunitare de *P. aeruginosa* sunt sensibile uzual la penicilinele anti-*Pseudomonas* (ticarcilina, piperacilina), aminoglicozide (gentamicina, tobramicina, amikacina), ciprofloxacina, cefoperazona, ceftazidima, meropenem, imipenem. Izolatele nosocomiale sunt mai rezistente ca cele comunitare. Pentru tratamentul de primă intenție a unei infecții sistemice este indicată o asociere a unei β -lactamine (ticarcilină, cefoperazonă, ceftazidima, imipenem) cu un aminoglicozid. În cazul alergiei la peniciline, administrăm chinolone.

(11) **Epidemiologie.** Bacilul piocianic este ubicuitar și rezistent la dezinfectante, fapt ce stă la baza implicării sale în etiologia infecției de spital. Pacienții spitalizați pot fi contaminați printr-o multitudine de căi: alimente, mâini murdare, echipamente respiratorii, fluide cu administrare intravenoasă, mai ales repetată din unic flacon (chiar conservat la frigider).

(12) **Profilaxie** Măsurile de igienă, asepsia și antisepsia din spitale (Capitolul 50) și alegerea unui antiseptic adecvat pentru plăgi pot scăde incidența acestor infecții în mediul de spital. Vaccinoterapia cu vaccin antipiocianic polivalent este indicată la bolnavii cu arsuri, iar cu vaccinuri monovalente la pacienții cu infecții piocianice ale căilor respiratorii. La pacienții cu arsuri grave vaccinoterapia se asociază cu ser hiperimun antipiocianic. Profilaxia specifică se realizează prin: imunizare activă cu vaccinuri antipiocianice polivalente, corpusculare sau cu lipopolizaharid purificat, indicate electiv la pacienții imunoreactivi din serviciile de terapie intensivă sau cele pentru arsuri; imunizare pasivă cu ser imun polivalent administrat intravenos sau imunoglobuline administrate intramuscular la pacienții cu arsuri grave sau imunodeficienții spitalizați.

13.2. ALTE PSEUDOMONADE CU INTERES MEDICAL

Pseudomonas fluorescens, *P. putida*, *P. stutzeri* au caracter mai psihrotrof decât bacilul piocianic și cresc între 4 și 41°C. Sunt implicate în bacteriemii ori septicemii, infecții de cateter intravenos, infecții bronhopulmonare, meningite.

Genul *Burkholderia* (de la numele lui W. H. Burkholder, care în 1950 a descris specia tip a genului, *B. cepacia*). În natură *B. cepacia* este implicată în putrezirea bulbilor de ceapă. A fost implicată însă și în infecții oportuniste după cateterizări intravenoase ori peritoneale și în infecții bronhopulmonare. Altă specie oportunistă, *B. picketti* a fost semnalată cauză de septicemii și bacteriemii.

Două specii de *Burkholderia* sunt patogeni specifici: *B. mallei* și *B. pseudomallei*. *Burkholderia mallei*, agentul etiologic al morvei, este singura pseudomonadă imobilă. Îmbolnăvește equinele și doar ocazional omul. În trecut (când cavaleria era o armă importantă) răspândirea speciei era cosmopolită. Astăzi o găsim restrânsă în focare enzootice din Asia și Africa. *Burkholderia pseudomallei*, agentul etiologic al melioidozei, are răspândire limitată în zonele tropicale umede din Asia de Sud-Est, Australia de Nord, America Centrală și de Sud, unde este izolată din mărul terenurilor inundate. Îmbolnăvește un număr mare de animale, inclusiv omul.

Stenotrophomonas maltophilia este un oportunist implicat în infecții grave ale gazdelor compromise: infecții bronhopulmonare (la pacienți cu fibroză chistică, după intubații traheale), infecții ale plăgilor și arsurilor, bacteriemii, septicemii, endocardite, infecții de cateter intravenos, meningite. Este una dintre cele mai rezistente bacterii la antibiotice; are rezistență naturală și la imipenem.

13.3. GENUL *ACINETOBACTER*

Minidefiniție. Genul *Acinetobacter* cuprinde bacili scurți, groși până la cocoizi, imobili, frecvent capsulați, strict aerobi, nepigmentogeni, oxidazo-negativi.

Câteva specii ale genului sunt întâlnite în fondul microbial de spital (☞ Capitolul 50): *A. baumannii*, *A. lwoffii*, *A. haemolyticus* și *A. calcoaceticus*.

(1) **Habitat.** Speciile de *Acinetobacter* sunt ubicuitare în sol și apele de suprafață și sunt frecvent izolate în industria alimentară a cărnii. Apar ocazional în microbiota flotantă a tegumentului.

(2) **Caractere microscopice.** Sunt bacili gram-negativi (uneori cu decolorare dificilă), scurți în faza de creștere logaritmică, dar devin cocoizi în faza de creștere staționară. Frecvent pot fi dispuși în perechi sau grămezi. Variabilitatea în colorația Gram, ca și variațiile de mărime pot fi observate în frotiul din aceeași cultură.

(3) **Caractere de cultură.** Nepretențioși nutritiv, cultivă în limite largi de temperatură și pH. Formează colonii S, uneori mucoide, galben palid sau alb-gri; unele tulpini izolate din ambient pot produce un pigment maron, difuzibil. Mărimea coloniilor este comparabilă cu a enterobacteriilor. Unele specii produc o hemoliză tip β pe geloză-sânge. Tulbură omogen bulionul cu formarea, uneori la suprafață, a unui vâl sau inel, iar în partea inferioară a tubului un depozit.

Studiul caracterelor biochimice permite diferențierea speciilor.

(4) **Rezistența în mediul extern.** Supraviețuiește perioade lungi în mediul de spital, cu posibilă transmitere între pacienți, fie din rezervor uman, fie prin obiecte. Rezistă pe suprafețele umede, inclusiv echipamentele respiratorii de terapie intensivă și pe pielea umană. Supraviețuiește până la 6 zile pe hârtia de filtru uscată, durată comparabilă cu *Staphylococcus aureus* și net superioară *E. coli* sau *Pseudomonas aeruginosa* care persistă 24 de ore sau mai puțin. Prezența în mediul de spital și rezistența la numeroși agenți antimicrobieni asigură speciilor de *Acinetobacter* un loc important între agenții infecțiilor nosocomiale (☞ Capitolul 50).

(5) **Structura antigenică.** Speciile de *Acinetobacter* au peretele celular și membrana externă cu compoziție similară majorității bacteriilor gram-negative, dar cu unele proprietăți care îi influențează permeabilitatea. Sunt descrise 28 serovaruri capsulare dintre care unele aparțin speciilor implicate în infecții umane.

(6) **Factori de virulență.** Chiar dacă *Acinetobacter* este considerat un accidental patogen, anumite caracteristici ale acestui microorganism pot exacerba virulența tulpinilor implicate în infecții. Aceste caracteristici sunt: prezența capsulei polizaharidice; capacitatea de aderență la celulele epiteliale datorată fimbriilor și/sau polizaharidului capsular; producerea de enzime care modifică lipidele tisulare; prezența endotoxinei. Abilitatea bacteriei de a obține fierul necesar creșterii în organismul uman este un determinant de virulență important și unele tulpini de *Acinetobacter* produc siderofori, ca aerobactin.

Experimental, infecțiile mixte în care *Acinetobacter* este membru al asocierii, sunt mult mai severe decât cele în care *Acinetobacter* este unicul agent etiologic.

(7) **Patogenitatea naturală și patogenie.** *Acinetobacter* determină o diversitate de infecții, mai ales în secțiile de terapie intensivă, fapt explicat prin numărul mare de proceduri invazive de diagnostic și tratament.

Infecțiile respiratorii sunt, probabil, cele mai frecvente. Factori de risc: vârsta crescută, boală pulmonară cronică, imunosupresie, proceduri chirurgicale, utilizarea antibioticelor, prezența canulei endotraheale sau tub gastric.

Infecții ale plăgilor și arsurilor.

Bacteriemii; infecții de cateter. Diferențierea este dificilă între contaminare cu bacterii prezente pe tegument și adevăratul agent etiologic – majoritatea pacienților sunt imunocompromiși iar punctul de plecare al infecției este tractusul respirator, cu rata maximă a bacteriemiei în a doua săptămână de spitalizare. Alt grup important de pacienți sunt nou născuții. Factori predispozanți: greutate redusă la naștere, terapie cu antibiotice în antecedente, ventilație mecanică, convulsii.

Meningite. Apar în particular după intervenții neurochirurgicale sau traumatism cranian. Factori de risc: existența unei comunicări între ventriculii cerebrali și mediul extern, ventriculostomie sau fistulă LCR; menținerea cateterului ventricular mai mult de 5 zile, utilizarea extensivă a antibioticelor în secțiile de terapie intensivă.

Infecțiile tractusului urinar. În special la pacienții în vârstă, tarați, spitalizați în secțiile de terapie intensivă și purtători de sonde urinare – majoritatea bărbați, cu afecțiuni ale prostatei.

Alte infecții. Endocardite la protezații valvular; peritonită la pacienții cu dializă peritoneală, infecții oculare.

(8) **Imunitatea** are multe necunoscute.

(10) **Diagnosticul bacteriologic** este singurul posibil. Examinăm, după caz, expectorații, aspirat bronșic, puroi, urină, hemoculturi, drenuri, catetere ș.a. Probleme pune nu izolarea bacteriei, ci argumentarea semnificației clinice a izolatelor. Pentru a diferenția izolatele semnificative de contaminanți aleatorii (de pe învelișurile pacientului ori din mediul de spital), sunt necesare reizolarea aceleiași bacterii din prelevări repetate și confruntările culturilor cu rezultatele microscopiei directe.

(11) **Elemente de terapie etiotropă.** Puține antibiotice sunt active asupra tulpinilor de *Acinetobacter*, mai ales *A. baumannii*, *A. calcoaceticus* și *A. haemolyticus*. Indicăta este asocierea unei β -lactamine cu un aminoglicozid. Rezistența prin β -lactamaze și enzime de inactivare a aminoglicozidelor este larg răspândită. Dintre noile β -lactamine, rezultate dau ceftazidima și imipenemul. Amikacina pare constant activă. Antibiotograma este întotdeauna necesară.

Frecvența cu care este utilizat un antibiotic sau altul se reflectă în scurt timp în rezistența tulpinilor de *Acinetobacter* circulante într-o regiune. Așa, în Germania

aminoglicozidele nu mai sunt eficiente, iar în Franța 75-80% dintre tulpini sunt rezistente la fluorochinolone (după numai 5 ani de utilizare!).

(12) Epidemiologie. Până la 25% dintre persoanele normale găzduiesc *Acinetobacter* ca bacterie flotantă. Portajul este mult crescut la pacienții spitalizați. Prezența în mediul de spital este documentată în aer, pe chiuvete sau dușurile, lenjerie, perne, perdele. A fost demonstrată prezența, în timpul unei izbucniri nosocomiale, a tulpinilor de *Acinetobacter* pe telefon, clanțe, foi de observație, contaminate probabil prin mâinile personalului de spital. Echipamentul de respirație asistată este un rezervor intermediar. Astfel, într-o izbucnire a fost demonstrată implicarea unui medic cu leziuni cutanate de dermatită și purtător cronic de *Acinetobacter* spp., care a contaminat echipamentul în cursul asamblării.

(13) Profilaxie. Accentul pe respectarea riguroasă a regulilor igienei de spital și asepsiei și antisepsiei este imperativ, mai ales în serviciile de terapie intensivă, în secțiile pentru pacienții cu mari arsuri ș.a., boli care cresc receptivitatea la infecție.

13.4. GENURILE *FLAVOBACTERIUM* ȘI *ALCALIGENES*

Speciile acestor genuri au caractere intermediare între pseudomonade și *Acinetobacter*. Sunt bacterii oportuniste care infectează gazde imunocompromise. Răspândite în ambient, mai ales în medii umede, contaminează și colonizează, în calitate de comensali flotanti, învelișurile și cavitățile. Așa ajung în mediul de spital fiind vehiculate prin apă (rezervoare pentru umidifierea aerului, dializă, robinet) sau, mai rar, prin soluții (antiseptice, soluții medicamentoase injectabile din flacoane cu utilizare repetată, perfuzabile) contaminate.

Flavobacteriile sunt bacili gram-negativi, nesporulați, imobili, nepretențioși nutritiv, aerobi. Cultivați pe medii solide produc pigment galben până la portocaliu.

Flavobacterium meningosepticum este responsabil de meningite neonatale grave, cu evoluție fatală în peste 50% din cazuri, sau cu sechele neurologice la supraviețuitori. Alte specii sunt rar întâlnite (infecții urinare, oculare, supurații și, excepțional, septicemii).

Tratamentul de primă intenție presupune asocierea unei β -lactamine cu un aminoglicozid. Durata tratamentului variază în funcție de contextul clinic, dar nu trebuie să fie mai mică de 2 săptămâni. Fluorochinolonele pot înlocui β -lactaminele în caz de alergie.

Genul *Alcaligenes* cuprinde bacili gram-negativi scurți până la cocoizi, dispuși izolați. Mobili prin flageli peritrichi. Sunt nepretențioși nutritiv și strict aerobi. Filogenetic și fenotipic sunt înrudiți cu *Bordetella bronchiseptica* (☞ Subcapitolul 14.4.2.).

Interes medical prezintă *A. xylooxidans* subsp. *xylooxidans*, o bacterie zaharolitică izolată mai ales din infecții septicemice nosocomiale; colonizează tractusul respirator la copii intubați, iar la pacienți cu fibroză chistică determină exacerbarea simptomelor pulmonare. Este sensibilă la piperacilină și asociația ticarcilină + acid clavulanic.

Alcaligenes faecalis este specia cea mai frecvent izolată în laboratorul clinic, dar, ca și alte specii azaharolitice, are rar semnificație clinică.

ROXANA FILIP

„Grava epidemie de gripă care a bântuit Europa în anii 1889/1890 a atras atenția asupra acestei boli. Din 1890 Pfeiffer a remarcat în speță prezența unui mic cocobacil pe care în 1892 l-a prezentat ca agent specific al gripei. Era necesar un anumit aditiv la mediile obișnuite pentru multiplicarea acestui microb. Acesta era sângele. Exaltarea pe care o are simbioza (sau cum spunea Menier, satelitismul) asupra microbului lui Pfeiffer este binecunoscută; Jacobson i-a dat sancțiunea experimentală.”

ALEXANDRU SLĂTINEANU, 1901, Paris, Teza de doctorat

„În urma cercetărilor făcute în vara aceasta, am putut izola endotoxina acestui microb. Acțiunea e absolut analogă cu injecția de corpi microbieni uciși prin căldură.”

ALEXANDRU SLĂTINEANU, 1905

14.1. GENUL *HAEMOPHILUS*

Numele speciei *Haemophilus influenzae* (gr. *haima*, sânge, și *philios*, sentiment de afecțiune, iubitor; it. *influenza*, gripă; lat. *-ae*, sufixul genitivului; bacterie iubitoare de sânge, care determină gripa) amintește permanent această asociere greșită. Deși *H. influenzae* a fost proclamată specia tip, nu a fost primul membru descris al noului gen. În 1883, Koch a descris un bacil care determină conjunctivită în Egipt, bacilul Koch-Weeks, numit apoi *H. aegyptius*.

Minidefiniție. Genul *Haemophilus* reunește mici bacili gram negativi, pleomorfi, imobili, nesporulați, facultativ anaerobi și carboxifili, dependenți de factorii de creștere X și/sau V prezenți în sânge. Factorul X este hemina, iar factorul V este nicotinamidnucleotidul (NAD) sau alte coenzime. Speciile care necesită pentru creștere numai factor V sunt individualizate prin prefixul *para-*: e.g., *H. influenzae* necesită ambii factori de creștere, *H. parainfluenzae* – numai factorul V.

Interes medical prezintă numai speciile găzduite la om pe mucoasele tractusului respirator superior și sporadic în intestin, vagin sau uretra distală ca organisme comensale ocazional condiționat patogene. Numai două specii sunt patogene primare: *H. aegyptius* (în prezent considerat biovar *aegyptius* al *H. influenzae*) pentru conjunctivă și *H. ducreyi* pentru organele genitale, nefiind izolate de la persoane sănătoase.

14.1.1. *Haemophilus influenzae*

(1) **Habitat.** Colonizează în număr mic tractusul respirator superior la 75% din copii și 40% din adulți. Serovarul b, invaziv (☞ mai jos) este izolat de la 3-7% din copiii mici.

(2) **Caractere microscopice.** *Haemophilus influenzae* este un bacil sau cocobacil scurt, cu capetele rotunjite, care se colorează slab gram negativ. Recolorarea prelungită 5-15 min cu fucsină diluată dă rezultate satisfăcătoare. Morfologia este influențată de mediul de cultură și vârsta culturii: după 6-8 ore de incubare în medii bogate nutritiv predomină formele cocobacilare; ulterior apare polimorfismul. În primoculturile tinere, la unele tulpini, poate fi observată capsulă.

În frotiurile din LCR, *H. influenzae* apare polimorf. În cele din spută predomină formele bacilare fine, frecvent cu dispoziție în „bancuri de pești” (CD 14-1,2).

(3) **Caractere de cultivare.** Cultivă pe medii care conțin factorii X și V, cum este geloza

cu sânge ciocolatat (încălzirea sângelui la 85°C eliberează din hematii factorul V și inactivează enzima care îl distruge), la 37°C favorizat de 5-10% CO₂; coloniile sunt mici, rotunde, convexe, translucide. Pe geloză-sânge cultivă numai în prezența *Staphylococcus aureus* care îi pune la dispoziție factorul V – fenomenul de satelitism (CD 3-1).

Identificarea preliminară a speciilor de *Haemophilus* se bazează pe demonstrarea necesităților pentru factorii de creștere X și V, dependența de CO₂ și caracterul hemolitic al coloniilor.

Identificarea definitivă a hemofililor o facem biochimic.

Haemophilus aegyptius s-a dovedit a fi un biovar al *H. influenzae* – biovarul *aegyptius*.

(4) Rezistența în mediul extern. *Haemophilus influenzae* este foarte sensibil în mediul extern: uscarea îl omorâă repede; supraviețuiește 48 ore în spută. Este distrus la 56°C în 30 minute și prin dezinfectantele obișnuite. Viabilitate mai bună la temperatura camerei decât la 4°C.

(5) Structura antigenică. Prezintă capsulă, fimbrii, lipopolizaharid (LPS), proteine ale membranei externe.

Există 6 tipuri antigenice capsulare, a-f. Capsula de tip b a fost cel mai larg studiată; dă reacții încrucișate cu *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecium* și *Escherichia coli* K1.

Fimbriile (pili). *Haemophilus influenzae* tip b din nasofaringe exprimă fimbrii, spre deosebire de izolatele din sânge și LCR; fenomenul este datorat variației de fază reversibile.

Variația LPS determină variații în morfologia coloniilor. Lipidul A prezintă cel puțin două componente distincte antigenic, specifice de specie pentru tulpinile capsulate și non capsulate.

(6) Factori de virulență. Capsula conferă caracterul invaziv al tulpinilor de *H. influenzae* serotip b. Capsula bacteriană ajută colonizarea și este factorul major de virulență pentru boala invazivă, deoarece protejează bacteria de fagocitoză și de liza mediată prin complement. Alți factori implicați în aderență și colonizare pentru tulpinile *H. influenzae* b includ LPS și fimbriile, care sunt importante pentru colonizare, dar nu pentru caracterul invaziv. Hemocina, o bacteriocină, este asociată cu tulpinile de tip b.

Studii recente sugerează că la tulpinile necapsulate de *H. influenzae* fimbriile și proteinele membranei externe P2 sunt factori majori de virulență.

(7) Patogenitate naturală și patogenie. Tulpinile necapsulate de *H. influenzae* colonizează tractusul respirator superior la om din primele luni de viață. Aceste tulpini se pot răspândi local și determină otite medii, sinuzite și infecții ale tractusului respirator inferior (bronșită, pneumonie) în condiții de depresie a transportului mucociliar. Tulpinile capsulate, particular serotip b, sunt cauză frecventă de boală la copii sub vârsta de 5 ani (epiglotită, meningită, celulită). Adezinele mediază colonizarea orofaringelui și epiteliului respirator cu *H. influenzae*. Componentele peretelui celular bacterian (e.g., LPS) afectează funcția cililor. Bacteriile sunt translocate prin celulele epiteliale și endoteliale și intră în torentul circulator. În absența anticorpilor opsonizanți specifici față de capsula polizaharidică, se dezvoltă bacteriemie cu diseminare meningeală sau în alte zone aflate la distanță (articulare, renale).

Haemophilus influenzae biovar *aegyptius* determină conjunctivite acute. A fost semnalat la copii din Brazilia, drept cauză a unei febre purpurice sistemice cu mare mortalitate.

(8) Imunitatea. Anticorpii față de capsula din poliribitol fosfat (PRP) a serotipului b stimulează fagocitoza și activitatea bactericidă mediată de complement. Acești anticorpi se dezvoltă ca urmare a infecției naturale, vaccinării sau transferului pasiv de anticorpi materni.

Cocobacili gram-negativi

Riscul de meningită și epiglotită este crescut la pacienții fără anticorpi anti PRP, deficienți de complement sau cei splenectomizați.

(9) Diagnosticul de laborator. Produsele prelevate sunt: LCR, sânge, spută. Deoarece există 10^7 UFC/mL LCR la pacienții cu meningită netratată, 1-2 ml sunt suficienți pentru teste. Hemocultura o facem pentru diagnosticul epiglotitei, celulitei, artritei, pneumoniei.

Microscopia. Pe frotiul colorat Gram urmărim prezența cocobacililor gram-negativi, dispuși în spută în „bancuri de pești”. Principala limită a colorației Gram este lipsa de contrast între bacterii și fondul preparatului. De aceea, este folosită colorația Wayson – bacteriile apar albastru închis și celulele inflamatorii albastru deschis sau purpurii. Detectarea antigenică nu satisface relația cost-beneficiu.

Izolarea o facem pe geloză cu sânge ciocolatat. Coloniile se dezvoltă la 24 ore, cu caracterele descrise mai sus. În hemoculturi, creșterea *H. influenzae* este întârziată pentru că majoritatea sistemelor comercializate nu conțin concentrația optimă de factor X și V și pot conține inhibitori de factor V. *Haemophilus influenzae* cultivă mai bine în flacoanele de hemocultură incubate anaerob pentru că în aceste condiții nu necesită factor X pentru cultivare.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Rezistența la ampicilină prin producere de β -lactamază a fost prima dată raportată în 1972, în anii următori a apărut și rezistența la cloramfenicol. Din 1980 este cunoscută rezistența la ampicilină prin modificarea proteinelor de legare a penicilinelor (PLP), care determină creșterea concentrației minime inhibitorii pentru toate β -lactaminele. Pacienții cu infecții sistemice necesită terapie antimicrobiană promptă, deoarece rata de mortalitate în meningită sau epiglotită este de 100%. Infecțiile severe sunt tratate parenteral cu cefotaximă sau ceftriaxonă. Infecțiile mai puțin severe, sinuzite sau otite, pot fi tratate cu ampicilină, dar, pentru tulpinile rezistente (35%) tratamentul este cu aminopeniciline + inhibitori de β -lactamază, cefalosporine orale din generația a 2-a sau a 3-a, azitromicină sau o fluorochinolonă.

(11) Epidemiologie. Rezervor de infecție sunt bolnavii sau purtătorii sănătoși de *Haemophilus influenzae* tip b. Transmiterea se face prin picături Flügge. Contactul apropiat favorizează transmiterea. Frecvența infecției invazive este invers proporțională cu vârsta, dar infecția în primele 2 luni de viață este rară, deoarece copiii sunt protejați de anticorpii materni transferați pasiv. Receptivitatea este condiționată prin deficiențe primare sau secundare ale răspunsului imun umoral, boli pulmonare cronice. Splenectomia crește riscul bacteriemiei.

(12) Profilaxie. Recurgem la imunoprofilaxie sau chimioprofilaxie.

Imunoprofilaxia. Antigenele capsulare purificate determină un răspuns imun redus la copii sub vârsta de 2 ani (Capitolul 7.1.3.). Eficiența vaccinului a fost obținută prin conjugarea PRP cu o proteină *carrier*: anatoxina tetanică sau difterică. Vaccinarea începe odată cu fereastra imună a sugarului.

Chimioprofilaxia. Rifampicina a fost propusă pentru prevenirea și eradicarea colonizării la purtători, dar utilitatea sa este controversată datorită riscului emergentei tulpinilor rezistente. Este recomandată pentru chimioprofilaxie la contactii unui copil cu meningită confirmată cu *Haemophilus influenzae*.

14.1.2. Alte specii de *Haemophilus*

Haemophilus ducreyi cauzează șancrul moale, boală cu transmitere sexuală în zonele tropicale și subtropicale, care se manifestă ca o ulceratie genitală pe fond de edem și însoțită de adenită regională dureroasă. Lasă imunitate de scurtă durată. Impune diagnostic diferențial cu șancrul sifilitic, herpesul simplex genital și limfogranulomatoza veneriană. Bacteria poate fi observată în raclatul din șancru sub formă de cocobacili gram-negativi colorați bipolar și

dispuși în lanțuri (aspectul lanțului de bicicletă). Uzual este asociat cu bacterii piogene. Este dependent numai de factorul X. Poate fi izolat pe geloză cu 30% sânge de iepure sau om, folosit în paralel cu un mediu selectiv (prin adaos de vancomicină și polimixină). Tratamentul cu ceftriaxonă sau sulfametoxazol-trimetoprim ori eritromicină asigură vindecarea în două săptămâni.

Haemophilus haemolyticus cauzează, ocazional, infecții benigne ale tractului respirator superior. *Haemophilus parainfluenzae* poate determina endocardite infecțioase și uretrite. *Haemophilus aphrophilus* este un comensal ubicuitar al orofaringelui (☞ Grupul HACEK).

14.2. GRUPUL BACTERIAN HACEK

HACEK este acronimul unui grup bacterian format din cinci specii: (i) *Haemophilus aphrophilus*, (ii) *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, (iii) *Cardiobacterium hominis*, (iv) *Eikenella corrodens* și (v) *Kingella kingae*. Toate sunt bacili sau cocobacili facultativ anaerobi și carboxifili (excepție *Kingella* care nu este dependentă de concentrații crescute de CO₂). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* este preferențial anaerob sau microaerofil. Pretențioși nutritiv, au creștere relativ lentă în primoculturi. Nu cresc pe medii uzuale.

Haemophilus aphrophilus și *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sunt constituenți ai plăcii dentare supra- și subgingivale. *Haemophilus aphrophilus* poate produce endocardite și pneumonii. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* este specific implicat în etiologia bolii parodontale juvenile și asociat leziunilor actinomicotice (lat. *comitans*, a acompania) în care persistă după dispariția *Actinomyces israelii* sub antibioticoterapie (☞ Capitolul 18.2.3.).

Celelalte specii sunt găzduite în nasofaringe și orofaringe. Și ele au potențial patogen redus. Pot fi implicate în infecții traumatice ale capului și gâtului, în bacteriemii cu localizări metastatice osteoarticulare ori viscerale.

Reunirea acestor specii în grupul HACEK este pragmatică și subliniază capacitatea lor de a produce endocardite infecțioase ale valvelor cardiace native sau protezate. Izolarea, chiar unică, a oricăreia dintre aceste specii în hemocultură de la pacienți cu endocardită are semnificație clinică.

Pentru terapia endocarditelor determinate de bacterii ale grupului HACEK antibioticul de elecție este ceftriaxona, iar alternativă este asociația ampicilină + gentamicină.

14.3. GARDNERELLA VAGINALIS

Gardnerella vaginalis, singurul reprezentant al genului, este un cocobacil polimorf gram-negativ sau gram-variabil, imobil, nesporulat. Este pretențios nutritiv și facultativ anaerob, cu unele tulpini anaerobe. Până la actuala individualizare, genul *Gardnerella* a perindat succesiv prin genurile *Haemophilus* apoi *Corynebacterium*.

Este găzduită în vagin de cca 5% dintre femeile virgine, iar procentul izolărilor variază între 14 și 69% dintre femeile active sexual. Într-o populație feminină cu incidența portajului peste 69%, cca jumătate din femei acuză semne de vaginoză.

Vaginoza este expresia clinică a unei disbioze vaginale de cauză neprecizată și caracterizată prin înlocuirea lactobacililor cu *G. vaginalis* și diferite specii anaerobe care includ *Mobiluncus* (☞ Capitolul 18.2.3.), *Bacteroides* (☞ Capitolul 18). De la aceste paciente sunt izolate cu frecvență crescută și micoplasme genitale (☞ Capitolul 21.2.).

Pacientele acuză scurgeri vaginale alb-cenușii, omogene, cu miros respingător de pește stricat.

Suspiciunea clinică de vaginoză este confirmată de:

Cocobacili gram-negativi

- Absența în scurgerile vaginale a unor patogeni ca *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* sau alte levuri în condițiile absenței reacției inflamatorii;

- Abundența celulelor epiteliale scuamoase vaginale fără bacili gram-pozitivi asociați, dar cu marginile neclare și suprafața granuloasă, ca bătută cu ținte („clue cells”) datorită numeroaselor bacterii aderente;

- pH-ul peste 5 al scurgerilor față de pH-ul normal sub 4,5 al mucoasei vaginale la femeia matură normală;

- Mirosul respingător particular acestor scurgeri vaginale datorat aminelor volatile degajate din metabolismul bacteriilor anaerobe:

Eficiența terapeutică a metronidazolului în terapia vaginozelor sugerează rolul asocierii bacteriilor anaerobe în această disbioză.

14.4. GENUL *BORDETELLA*

Numele acestui gen, *Bordetella*, este omagiu pentru bacteriologul belgian J. Bordet, care, în 1906, împreună cu O. Gengou, a descoperit agentul etiologic al tusei convulsive.

Minidefiniție. Bordetelele sunt mici cocobacili gram-negativi imobili sau mobili cu flageli peritrichi. Nesporulați, strict aerobi, cu exigențe nutritive diferite în funcție de specie, și relativ inerti metabolic.

Dintre cele șase specii ale genului, principalul patogen uman este *B. pertussis*. Interes medical mai prezintă *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* și *B. holmesii*.

14.4.1. *Bordetella pertussis*

(1) **Habitat.** *Bordetella pertussis* este găzduită numai de om ca agent etiologic al tusei convulsive.

(2) **Caractere microscopice.** În prelevate patologice și primoculturi apare ca mici cocobacili gram-negativi dispuși izolat sau în perechi, rar în scurte lanțuri. În subculturi devin pleomorfi, bacilari sau filamentoși. Fixează colorantul bipolar și pot prezenta incluziuni colorate metacromatic cu albastru de toluidină.

(3) **Caractere de cultivare.** Mediul clasic Bordet-Gengou, o geloză cu extract glicerinat de cartof și 30% sânge defibrinat de iepure, nu mai este utilizat pentru că este eficient doar 1-7 zile și dă culturi autoaglutinabile. În prezent utilizăm o geloză cu cărbune activat și sânge de cal. Pe acest mediu cultura apare mai repede (față de 3-4 zile pe mediul Bordet-Gengou). În primoculturi coloniile sunt mici, S, convexe, negre, cu suprafața perlata și consistență untoasă. În subculturi coloniile devin alb-cenușii și trec prin mai multe stadii de *rough*-izare spre avirulență. Diferențierea de alte specii o facem printr-un număr redus de teste biochimice și antigenice.

(4) **Rezistența în mediul extern** este redusă. Prelevatele patologice și culturile conțin o serie de inhibitori (acizi grași, peroxizi organici) care sunt neutralizați prin amidonul sau cărbunele activ inclus în compoziția mediilor de cultură. Moare în cca două ore la temperatura camerei și în 60 minute după expunere la lumina solară.

(5) **Structura antigenică** a acestei bacterii este complexă. Tulpinile virulente, în faza de cultură I, au structura antigenică completă, care include: antigene capsulare polizaharidice, aglutinogene proteice de membrană externă. Lipopolizaharidul este comun tulpinilor S și R.

(6) **Factorii de virulență** produși de *B. pertussis* sunt numeroși și explică gravitatea bolii. Cinci factori sunt codificați de locusul genetic *bvg* (*Bordetella virulence genes*) și sunt sub controlul unor proteine reglatoare care răspund la stimuli externi (e.g., toxigeneză la 37°C, dar nu la 28°C):

(i) *Hemaglutinina filamentoasă* asigură adezivitatea la cilii epitelului respirator.

(ii) *Toxina pertussis* este o toxină A-B. Polipeptidul B este ligand la receptori membranari și mitogen nespecific al limfocitelor T citotoxice și T supresoare. Polipeptidul A are triplu efect: activator al adenilat ciclazei membranare, sensibilizare la histamină și hipersecreție de insulină.

(iii) *Adenilat ciclaza calmodulin-dependentă* stimulează secreția epitelului respirator, îl permeabilizează pentru toxina pertussis și inhibă funcțiile fagocitelor, inclusiv ale macrofagelor alveolare.

(iv) *O dermatoxină necrotică*.

(v) *O hemolizină*.

Codificate de gene din afara locusului *bvg* sunt fimbriile și o *citotoxină traheală* care inhibă sinteza ADN în celulele ciliate, are efect citotoxic și determină ciliostază. Lipopolizaharidul peretelui bacterian contribuie și el la lezarea celulelor epitelului respirator.

(7) Patogenitatea naturală și patogeneza. Odată inhalată, *B. pertussis* aderă la epitelul respirator prin fimbrii. Fixarea este stabilizată prin hemaglutinina filamentoasă și toxina pertussis. Sistemul imun este contracarat de toxina pertussis și de adenilat ciclaza calmodulin-dependentă iar citotoxina traheală lezează epitelul respirator. Infecția rămâne localizată, fără invazia sistemului circulator. Apare inflamație peribronșică cu pneumonie interstițială. Obstrucția bronșiolelor cu dopuri de mucus determină atelectazii care împreună cu expirul forțat, prelungit, din timpul acceselor de tuse duc la hipooxygenarea sângelui, probabil responsabilă de frecvența convulsiilor la copii mici.

După o incubatie de cca două săptămâni, boala evoluează în trei stadii, cataral, convulsiv și de convalescență, cu durata medie de două săptămâni fiecare. În primul stadiu, catarul respirator și tusea sunt necaracteristice, dar bolnavii sunt foarte contagioși. În stadiul convulsiv tusea este spasmodică, epuizantă, asociată cu cianoză, vărsături, convulsii, edem palpebral și congestie conjunctivală. Pacienții expectorează greu o cantitate redusă de spută vâscoasă. Leucocitoza ajunge la 16.000-30.000 leucocite/mm³ cu limfocitoză absolută.

Boala se complică prin suprainfecții cu bacterii care se coafează cu hemaglutinina filamentoasă (piraterie de adezine): *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*. O complicație mai rară, dar fatală este encefalita.

(8) Imunitatea. Anticorpii IgA secretori anti-hemaglutinină filamentoasă și anti-toxină pertussis sunt protectori. La eliminarea completă a bacteriei din pulmoni intervine însă și răspunsul imun celular.

(9) Diagnosticul de laborator. Prelevatul de elecție este tamponul nasofaringian recoltat pernasal. Colorația imunofluorescentă depistează *B. pertussis* în exsudatul nasofaringian cu sensibilitate de numai 50%, având avantajul rapidității diagnosticului. Pentru izolare utilizăm mediu selectiv cu cefalexină, dar există riscul creșterii florei rezistente: *Haemophilus influenzae*, enterococi și pseudomonade. Plăcile sunt examinate la 24 ore de incubare și apoi până la 7 zile, înainte de a fi declarat rezultat negativ. Studii recente indică incubarea până la 12 zile.

Identificarea izolatelor o facem antigenic prin colorație imunofluorescentă sau aglutinare.

Diagnosticul serologic este inoperant pentru că răspunsul imun apare abia după trei săptămâni de boală. Este util doar pentru diferențierea sindroamelor de tuse convulsivă cu alte etiologii (virală sau infecție cu alte bordetele).

(10) Elemente de terapie etiotropă. Eritromicina este antibioticul de elecție atât pentru tratament, cât și profilaxie și scurtează perioada de infectivitate. Cotrimoxazolul este indicat dacă nu se poate administra eritromicină. Amoxicilina și cefalosporinele orale determină eșec terapeutic.

(11) Epidemiologie. Sursa de infecție: bolnavul. Calea de transmitere: aerogenă, prin picături Flügge. Receptivitatea: generală. Imunizarea transplacentară are eficiență redusă sau nulă.

(12) Profilaxie. Trivaccinul anti-diftero-tetano-pertussis imunizează eficient. Primovaccinarea trebuie făcută la vârsta de 3-9 luni și este urmată de două rapeluri: 6-9 luni și după 18-24 luni. După această vârstă administrarea trivaccinului este contraindicată din cauza riscului encefalitei postvaccinale prin componente pertussis, evitată prin promovarea vaccinului acelular.

14.4.2. Alte bordetele cu interes medical

Bordetella parapertussis, găzduită numai de om și *B. bronchiseptica*, găzduită de variate animale sălbatice și domestice, produc sindroame benigne de tuse convulsivă. Patogenitatea lor este asigurată de factori de virulență pe care i-am întâlnit și la *B. pertussis*, dar *nu produc toxina pertussis*.

Au fost semnalate hemoculturi pozitive cu *B. holmesii* la pacienți imunodeficienți, și cu *B. bronchiseptica* ori *B. hinzii* la cei cu SIDA.

14.5. GENUL *BRUCELLA*

Numele genului vine de la David Bruce, medic englez, care a descris una dintre specii.

Minidefiniție. Brucelele sunt bacili scurți sau cocobacili gram-negativi, imobili, nesporulați; strict aerobi, catalazo-pozitivi și, uzual oxidazo-pozitivi. Nu produc acizi din carbohidrați pe mediile care conțin peptonă.

(1) Habitat. Sunt patogeni primari ai multor animale. Dintre cele șapte specii cunoscute numai patru prezintă interes medical: *B. melitensis*, care tipic infectează caprele; *B. abortus* – vitele; *B. suis* – porcii și *B. canis* – câinii.

(2) Caractere microscopice. Sunt mici cocobacili gram-negativi, care se colorează frecvent bipolar; imobili; nesporulați.

(3) Caractere de cultivare. Bacterii fastidioase, mai ales în primoculturi, necesită medii special îmbogățite. Dintre speciile care infectează omul, *B. abortus* este singura carboxifilă.

(4) Rezistența în mediul extern a brucelelor este relativ mare. Supraviețuiesc 2-3 luni în gunoiul de grajd, câteva săptămâni în apă, 3-60 zile în brânzeturi, 15-40 zile în pulberi. Pasteurizarea laptelui le omoară eficient. Sunt sensibile la dezinfectantele uzuale.

(5) Structura antigenică. Brucelele au două antigene LPS, antigenele A și M, prezente în diferite proporții la speciile pe care le studiem. Pot fi identificate numai în laboratoare specializate prin reacții de adsorbție a aglutininelor.

(6) Factori de virulență. Brucelele sunt bacterii facultativ intracelulare, sensibilizante pentru organismul infectat. Produc endotoxină activă.

(7) Patogenitatea naturală și patogenie. Variația de la forma de cultură S la cea R este însoțită de pierderea virulenței. Serul animalelor receptive conține o globulină și o lipoproteină care suprimă creșterea formei R și o favorizează pe a celei S. Speciile nereceptive nu au acești factori încât favorizează selectarea formei avirulente. Metabolizarea electivă de către brucele a eritritolului, carbohidrat prezent în placenta și țesuturile fetale ale animalelor receptive, dar absent la om, explică tropismul brucelelor pentru aceste țesuturi și avortul pe care îl determină la animalele gestante. După avort, infecția se localizează în glanda mamară cu eliminarea brucelelor timp îndelungat prin lapte.

La om poarta de intrare a brucelelor este variată: mai frecvent digestivă sau prin escoriații, mai rar respiratorie sau conjunctivală. De la poarta de intrare, brucelele ajung în ganglionii limfatici regionali și mai departe, prin ductul toracic, în curentul sanguin, care le răspândește în sistemul reticuloendotelial din organele parenchimatoase și sistemul osos. Ca

patogeni facultativ intracelulari, declanșează aici o reacție inflamatorie cu noduli granulomatoși care evoluează spre abcedare. Așa apare, după incubatie de 1-6 săptămâni, o simptomatologie foarte polimorfă legată de bacteriemia inițială și evoluția unor limfadenite, osteomielite, colecistite, meningite etc.

Stadiul acut, bacteriemic, al bolii este urmat după 2-4 luni de un stadiu subacut și de cronicizarea infecției. În stadiul subacut și cronic descărcări bacteriemice în prezența anticorpilor bactericizi anti-*Brucella* pot genera eliberări de endotoxină responsabile pentru stări de șoc.

Omul este receptiv în grade variate la cele patru specii de *Brucella*. *Brucella melitensis* determină infecții severe cu bacteriemia bine exprimată (febra de Malta sau ondulantă) și evoluție frecventă a granuloamelor spre cazeificare și abcedare. *Brucella abortus* și *B. canis* determină forme de boală ușoare cu faza bacteriemică frecvent inaparentă, fără complicații supurative prin cazeificarea granuloamelor. Infecția cu *B. suis* se cronicizează cu leziuni supurative.

(8) Imunitatea anti-*Brucella* este celulară, de infecție (legată de persistența infecției latente).

(9) Diagnosticul de laborator. Efectuăm hemoculturi în stadiul acut bacteriemic, în măsura în care este exprimat clinic. Funcție de simptomatologia stadiului subacut și cronic, examinăm: biopsii ganglionare, măduvă osoasă, lichid cefalorahidian etc.

Microscopia directă este negativă. Chiar și colorația imunofluorescentă rămâne frecvent negativă.

Izolarea impune utilizarea de medii speciale care satisfac exigențele nutritive ale brucelelor. Culturile trebuie incubate la 37°C, în atmosferă cu 10% CO₂ și urmărite patru săptămâni. Hemoculturile impun utilizarea mediilor difazice cu însămânțarea pantei de geloză la fiecare 2-4 zile.

Identificarea izolatelor suspecte o facem prin determinarea necesității CO₂ la izolare, a producerii de H₂S, determinarea semicantitativă a activității ureazei, sensibilitatea diferențiată la fucsina și tionină. În laboratoare specializate este continuată prin reacții de aglutinare cu seruri imune adsorbite. *Brucella abortus* este specific sensibilă la bacteriofagul Tbilisi.

Serologic cantificăm aglutininele anti-*Brucella* prin reacția Wright. Titrul anticorpilor IgM crește în primele săptămâni ale infecției acute și poate persista în infecția cronică. Chiar după terapia antimicrobiană eficientă, titrul aglutininelor IgM poate persista până la doi ani. Anticorpii IgG apar după cca trei săptămâni de la debutul bolii, ating un maxim la 6-8 săptămâni și persistă pe durata infecției latente. Obișnuit infecția cu *B. canis* nu poate fi diagnosticată serologic.

După stadiul acut al brucelozei, reacția Wright poate fi dificil de interpretat din cauza anticorpilor blocați, care dau rezultate fals negative. Anticorpii blocați sunt anticorpi IgA care interferează activitatea aglutinantă a anticorpilor IgM și IgG. Anticorpii blocați apar după stadiul subacut al infecției și persistă mulți ani în infecția cronică și latentă. Pot fi depistați prin testul de blocare sau prin testul Coombs.

• **Testul de blocare.** Tuburilor negative în reacția Wright li se adaugă câte o picătură de ser anti-*Brucella*. Absența aglutinării indică prezența anticorpilor blocați iar aglutinarea, absența acestora.

• **Testul Coombs.** În tuburile negative ale reacției Wright adăugăm la antigenul brucelic (spălat, pentru îndepărtarea imunoglobulinelor fixate nespecific și resuspensionat la volumul inițial) o cantitate determinată de ser antiglobulinic uman. Aglutinarea indică prezența anticorpilor blocați.

Intradermoreacția la brucelină (filtratul culturii de *Brucella* în formă S în vârstă de 15 zile) depistează sensibilizarea de tip întârziat. Este rar utilizată, persistă în infecția latentă și

Cocobacili gram-negativi

stimulează creșterea titrului aglutinelor anti-*Brucella*.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Tratamentul bolii este dificil din cauza localizării intracelulare a brucelelor. În faza acută și subacută este indicată asociația doxiciclină + streptomycină și alternativ doxiciclină + rifampicină sau cotrimoxazol + gentamicină. Tratamentul trebuie urmat 4-6 săptămâni. Recăderile sub antibioterapie sunt posibile. Bruceloza cronică sau latentă nu este sensibilă la antibioticoterapie.

(11) Epidemiologie. Sursă de infecție sunt animalele bolnave. Transmiterea se face prin aerosoli degajați în cursul avortului, țesuturile avortonului, lapte și produse din lapte, bălegar, pulberi, apa contaminate. Receptivitatea este generală, mai expuși fiind fermierii, veterinarii și măcelarii din abatoare.

(12) Profilaxia. Pasteurizarea distruge eficient brucelele din lapte. Echipamentul de protecție este obligator pentru personalul expus riscului infecției: măști, mănuși, șorțuri și cizme din cauciuc. Este necesară vaccinarea șeptelului și sacrificarea animalelor bolnave. Vaccinarea selectivă a personalului în contact cu animalele este în experimentare.

14.6. GENUL *PASTEURELLA*

Numele genului a fost propus de Trevisan în 1887 în onoarea lui Louis Pasteur, care a confirmat una dintre speciile genului ca agent etiologic al holerei găinilor și a preparat un vaccin împotriva acestei boli.

Minidefiniție. Pasteurelele sunt mici cocobacili gram-negativi polimorfi, nesporulați, immobili. Frecvent fixează colorantul bipolar. Aerobi și facultativ anaerobi, cresc pe medii uzuale la 37°C. Toate speciile sunt catalazo- și oxidazo-pozitive, dar diferă prin alte teste biochimice.

Sunt importanți patogeni ai animalelor. Interes medical prezintă: *P. multocida*, *P. haemolytica*, *P. dagmatis*, *P. ureae*.

14.6.1. *Pasteurella multocida*

(1) Habitat. Colonizează căile aero-digestive superioare și intestinul multor animale. Persoanele care vin în contact strâns cu aceste animale pot fi purtătoare nasofaringiene ale bacteriei.

(2) Caracterele microscopice sunt cele ale genului. Poate fi capsulată.

(3) Caractere de cultivare. Pe geloză-sânge, după incubare peste noapte la 37°C, formează colonii mici, rotunde, cu opalescență albăstruie, strălucitoare, nehemolitice. Tulpinile capsulate formează colonii mari, mucoide.

(4) Rezistența în mediul extern. Foarte sensibilă, este omorâtă prin încălzire la 60°C în câteva minute și prin 0,5% fenol în 15 minute.

(5) Structura antigenică. Prezintă antigene somatice și capsulare. Izolatele pot fi clasificate în 5 tipuri capsulare (A, B, D, E, F) pe baza unei reacții de hemaglutinare indirectă. Tulpinile de origine umană sunt de tip A sau D.

(6) Factori de virulență. Capsula. Unele tulpini de *Pasteurella multocida* produc o citotoxină dermonecrotică.

(7) Patogenitatea naturală și patogenie. Determină infecții la animale în condiții de scădere a rezistenței antiinfecțioase. Infecțiile omului sunt accidentale:

- Infecții ale plăgilor mușcate sau zgâriate de animale.
- Infecții ale căilor respiratorii (sinuzite, bronșite, pneumonii, pleurezii).

• Meningite și abcese cerebrale apar uneori după intervenții O.R.L. la purtătorii de *P. multocida* sau la pacienți cu sinuzite ori otite medii cauzate de această bacterie.

(8) Imunitate. *Pasteurella multocida* este un parazit intracelular. Anticorpilor opsonizanți

sunt probabil cei mai importanți.

(9) Diagnosticul de laborator. În funcție de localizarea infecției examinăm: aspirat sau chiuretaj din plaga mușcată (tamponul dă rezultate nesatisfăcătoare), puroi sinusal, exsudat pleural, spută, hemoculturi sau lichid cefalorahidian. Pasteurelele cresc bine pe geloză cu 5% sânge de berbec. Izolarea primară este îmbunătățită dacă plăcile sunt incubate până la 72 ore în atmosferă umedă cu 3-5% CO₂. Injectarea la șoarece este metodă rapidă și sensibilă de izolare (infecție letală în 24 ore), care oferă și criteriul principal de semnificație clinică pentru izolatele din prelevate contaminate: virulența. Serodiagnosticul este fără valoare. Intradermoreacția la pasteurelină (filtratul culturii de *Pasteurella* în bulion în vârstă de 8 zile) depistează o reacție de sensibilizare specifică după 8-10 zile de la injectare. Această metodă de diagnostic dă bune rezultate în pasteurelozele subacute sau cronice.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Chiar dacă majoritatea tulpinilor de origine animală sunt rezistente la antibiotice, pentru izolatele umane acest lucru este rar. Majoritatea sunt sensibile la penicilină și tetraciclina; minociclina este antibioticul de elecție pentru forma localizată, la om. Alternativă terapeutică: macrolidele. Fluorochinolonele sunt eficiente în tratamentul pasteurelozei sistemice.

14.6.2. Alte pasteurele cu interes medical

Pasteurella ureae este mai rar găsită la animale decât în căile respiratorii superioare ale omului. Ocazional determină pneumonii, septicemii, meningite, peritonite.

Pasteurella dagmatis este găzduită de animale. Determină infecții ale plăgilor mușcate de câini sau pisici. Poate fi cauză de endocardite.

Pasteurella haemolytica este găzduită în tractusul respirator al vitelor, oilor, porcilor, cailor, păsărilor. Este cauză importantă de pneumonii epizootice la vite și oi și a holerei găinilor și curcanilor. Infecțiile la om sunt rare.

Pasteurella canis și *P. stomatis* găzduite în orofaringele câinilor și/sau pisicilor infectează plăgile mușcate de aceste animale.

14.7. FRANCISELLA TULARENSIS

Francisella tularensis, agentul etiologic al tularemiei, a fost descrisă la om în 1907 și la rozătoare în 1912. Numele genului este o recunoaștere a contribuției lui Edward Francis, care a studiat aprofundat agentul etiologic și patogenia tularemiei. Numele speciei și al bolii derivă de la Tulare Country, California.

Minidefiniție. Minuscul cocobacil pleomorf, gram-negativ. Strict aerob, fără pili, posedă o capsulă fină, de natură lipidică. Profilul de acizi grași, unic pentru genul *Francisella*, îi ușurează identificarea.

Francisella tularensis este singura dintre cele trei specii ale genului care a fost izolată în România.

(1) Habitat. Are largă răspândire în natură: izolată de la animale, inclusiv mamifere și păsări, artropode, animale domestice, ca și din apă, noroi sau fecalele animalelor.

(2) Caractere microscopice. Pe frotiurile directe colorate Gram, franciselele sunt dificil de observat. Colorația Giemsa oferă mai multe detalii și le depistează cu sensibilitate mai mare în prelevatele patologice de la animale sub formă de cocobacili colorați bipolar, capsulați și frecvent grupați în mici grămezi. Colorația imunofluorescentă depistează și identifică rapid *F. tularensis*.

(3) Caractere de cultivare. *Francisella tularensis* cultivă dificil, aerob, numai pe medii special îmbogățite cu cisteină sau cistină. Studiul caracterelor biochimice diferențiază speciile și biovarurile de *Francisella*.

(4) Rezistența în mediul extern. În natură, persistă mai multe săptămâni în apă, noroi și carcase de animale în putrefacție. Se înmulțește și supraviețuiește în interiorul amoebelor, ca

Cocobacili gram-negativi

și *Legionella*, o caracteristică care contribuie la supraviețuirea în apă sau noroi. Căldura umedă o omoară în 10 minute la 55°C.

(5) **Structura antigenică.** Are înrudiri antigenice cu *Brucella*, de care trebuie să ținem cont la interpretarea rezultatelor serodiagnosticului.

(6) **Factori de virulență.** *Francisella tularensis* este bacterie facultativ intracelulară.

(7) **Patogenitatea naturală și patogenia.** Doza infectantă este de cca 50 UFC, iar incubarea bolii de 4-6 zile. Formele clinice ale tularemiei variază cu poarta de intrare a infecției:

- Inocularea cutanată este cea mai frecventă și generează *forma ulceroganglionară*. *Francisella tularensis* este inoculată transcutan de căpușe, dar poate trece chiar prin tegument intact după simplă fricțiune. La locul de inoculare apare o papulă care evoluează în pustulă și ulceratie. Apar trenee de limfangită și adenită regională – **bubonul tularemic**. La unii pacienți poate să apară bubon în absența ulcerului.

- Contagiul conjunctival este urmat de *forma oculo-ganglionară*: conjunctivită unilaterală cu adenită preauriculară.

- Infecția respiratorie sau digestivă este mai gravă și evoluează ca *formă orofaringiană* (stomatită, faringită, tonsilită cu limfadenită cervicală), *intestinală* (dureri abdominale, vomă, diaree), *pneumonică* sau *tifoidică*. Ultimele trei forme evoluează bacteriemic.

În caz de deces sunt constatate leziuni necrotice în splină, ficat, pulmonii și măduva osoasă.

(8) **Imunitatea.** Rezistența dobândită care urmează vindecării este celulară, de durată și înalt protectivă.

(9) **Diagnosticul de laborator.** Examinăm: raclat din ulcere cutanate, aspirat ganglionar, spălătură gastrică, spută, sânge. Prelevările trebuie făcute cât mai precoce. După supurarea bubonului bacteria dispare rapid și nu mai poate fi depistată.

Diagnosticul direct poate fi făcut numai în laboratoare specializate cu dotări de securitate antiepidemică.

Pentru *microscopia directă* recurgem la colorația imunofluorescentă.

Izolarea pe medii de cultură are sensibilitate nesatisfăcătoare. Mai sigură este inocularea prelevatului patologic la șoarece sau cobai. Inocularea percutană elimină bacteriile de putrefacție din cadavrele animalelor eventual examinate. Animalele inoculate sunt sacrificate după 6-10 zile de supraveghere și necropsiate. Acum *Francisella tularensis* poate fi observată pe frotiuri directe din sânge, amprente de splină, ficat ori peritoneu (dacă injectarea a fost intraperitoneală), colorate Giemsa, și poate fi izolată pe medii de cultură.

Diagnosticul serologic: este indicat când laboratorul nu dispune de condițiile de securitate antiepidemică sau când cultura rămâne negativă pentru *F. tularensis*. Reacții folosite: aglutinare în tuburi, hemaglutinare sau ELISA.

Aglutininele anti-*F. tularensis* apar după a 7-a zi de boală. Prezumția de tularemie o susțin titruri peste 1:80, iar confirmarea o creștere de cel puțin 4 ori a titrului în seruri prelevate la interval de 10-14 zile. Titruri de 1:20 până la 1:80 persistă mai mulți ani de zile după infecție.

Serul bolnavilor de tularemie poate reacționa încrucișat cu suspensii de *Brucella* sau, invers, serul bolnavilor de bruceloză poate reacționa cu antigenul tularemic. Urmărirea dinamicii semnificative a anticorpilor sau intradermoreacția la tularină și brucelină clarifică asemenea situații. **Tularina** este o suspensie cu 10^8 cocobacili tularemiici/mL în soluție salină izotonă glicerinată 3% și inactivată o oră la 80°C. Intradermoreacția la tularină se pozitivează după a 5-a zi de boală și depistează o sensibilizare de tip întârziat persistentă mulți ani la foștii bolnavi.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Streptomicina este antibioticul activ. Alternative: gentamicina, tetraciclina, cloramfenicolul și tobramicina. Administrată precoce antibiotico-terapia este eficientă. În stadiul tardiv, după abcedarea bubonului, este indicată exereza chirurgicală a leziunii.

(11) Epidemiologie. Sursa: mamiferele sălbatice și domestice infectate cu *F. tularensis*. Omul se contaminează mai frecvent prin manipularea animalelor bolnave (jupuire, tranșare) și cadavrelor. Mulți pacienți precizează în anamneză contact cu un iepure 5-6 zile înaintea debutului bolii. Profesional sunt expuși: vânătorii, paznicii de vânătoare, măcelarii. Transmiterea prin vectori biologici (căpușe, țânțari) este demonstrată.

Marea infecțiozitate face din *F. tularensis* o potențială armă bacteriologică.

(12) Profilaxia. Nu există control efectiv al acestei boli în natură; opinia publică trebuie avertizată asupra prezenței ubicuitare a microorganismului și potențialului infecțios pentru om. În arii endemice nu se manipulează animale moarte sau muribunde; clorinarea apei a eliminat teoretic posibilitatea izbucnirilor, dar apa netratată poate deveni sursă de infecție. Este necesară supravegherea importului de animale. Un vaccin viu atenuat este în faza de cercetare. Este indicat la persoane expuse microorganismului. Stimulează imunitatea umorală și celulară. Durata imunității asigurate este necunoscută.

„O izbucnire epidemică explozivă cauzată de o bacterie necunoscută a afectat participanții la una dintre Convențiile Legiunii Americane în iulie 1976. Din 182 cazuri, 29 au fost fatale. Bacteria părea să se răspândească aerogen. Sursa de infecție nu a fost descoperită, dar investigațiile epidemiologice sugerau producerea contaminării în foaierul central al hotelului sau în împrejurimile acestuia. Mulți dintre angajații hotelului păreau să fie imuni, ceea ce sugera că agentul infecțios era prezent în aria respectivă, probabil cu intermitență, de doi sau mai mulți ani.”

D. W. FRASER, 1977

Minidefiniție. Legionelele sunt bacili fini, gram-negativi, pot deveni filamentoși în culturi bătrâne. Sunt mobili prin unul sau mai mulți flageli polari sau subpolari, a căror exprimare este inconstantă, dependentă de temperatură. Nesporulați, fixează greu coloranții de anilină pentru că peretele lor, deși de tip gram-negativ, este bogat în acizi grași ramificați. De elecție sunt colorațiile prin impregnare argentică. Aerobi, cultivă numai pe medii suplimentate cu L-cisteină și săruri de fier. Culturile la 37°C apar lent în 2-4 zile.

Dintre cele 39 de specii ale genului, 20 au fost izolate și de la om, dar interesul medical se limitează numai la câteva: *Legionella pneumophila*, responsabilă de 80% din legioneloze, *L. micdadei* de 5%. Restul de 15% din legionelozele diagnosticate sunt determinate de alte specii ca *L. feeleyi*, *L. anisia* ș.a.

(1) Habitat. Legionelele sunt bacterii acvatice. Se dezvoltă în rezervoarele naturale sau artificiale de apă în simbioză cu microbiocenozele proprii acestora. Cianobacteriile, flavobacteriile și algele le oferă nutrienți. Protozoarele rhizopode și ciliate le ingeră, dar nu le omoară, încât în medii sărace nutritiv devin gazde de amplificare iar când se închistează le protejează de uscăciune, de alte condiții defavorabile și le facilitează transmiterea. Prezentă în apa menajeră sau din spital a fost corelată cu temperatura scăzută a apei calde, insuficientă pentru a omorî bacteria. Colonizarea omului cu *Legionella* este foarte rară. Izolarea din produse patologice este asociată cu boală evidentă clinic.

(2) Caracterele microscopice. Sunt cele precizate în minidefiniție.

(3) Caractere de cultivare. Legionelele sunt strict aerobe. Mediul standard de izolare este agarul BCYE- α (*Buffered Charcoal Yeast Extract α -cetoglutarat*) care conține extract de drojdie, sursă de nutrienți – L-cisteină, compuși cu Fe, α -cetoglutarat, care stimulează creșterea. Cărbunele activat absoarbe compușii toxici care sunt produși în mediu, în special în prezența luminii. Coloniile au suprafața neregulată (aspect stropit) un luciu roșu-albastru-verzui, asemănătoare „sticlei tăiate”. Deși coloniile sunt rotunde și întregi, jocul luminii pe suprafața lor produce un aspect neregulat. Alt caracter de identificare este consistența lipicioasă la manipularea cu ansa.

Studiul caracterelor biochimice permite diferențierea speciilor.

(4) Rezistența în mediul extern. Supraviețuiesc în apa de robinet la 4°C cca un an, iar în apa distilată până la aproximativ patru luni. Rezistă la pH 4,2 timp de 30 minute. În aerosoli,

neprotejate în chiștii protozoarelor, mor repede prin desicare. Largă sensibilitate la substanțele chimice biocide, care eliberează clor, formolul, fenolul, compuși cuaternari de amoniu.

(5) Structura antigenică. A fost studiată pentru *L. pneumophila*. Prezintă interes antigenele membranei externe.

- *LPS* are activitate similară cu endotoxina altor bacili gram-negativi, dar compoziția chimică este diferită; caracterizează 13 serogrupe dintre care serogrupul 1 a fost divizat, prin anticorpi monoclonali, în subtipuri – importanți marcheri epidemiologici.

- *Proteina membranei externe* este specifică pentru *L. pneumophila*. Alte antigene proteice au fost evidențiate prin electroforeză sau imunoblotare.

Antigenul flagelar are specificitate de gen.

(6) Factori de virulență. *Glicocalixul* secretat de legionele este ligand la cele mai variate suprafețe: metal, sticlă, cauciuc, mase plastice, mucoasa respiratorie. În afară de endotoxina lipopolizaharidică, legionelele mai produc exotoxine (insuficient studiate) și proteaze. Sunt bacterii facultativ intracelulare.

(7) Patogenitate naturală și patogenie. Infecțiile cu *Legionella* sunt contractate cel mai frecvent prin inhalare și ocazional prin contaminarea plăgilor. Pot fi clasificate în 4 categorii: infecția subclinică, boală non pneumonică, pneumonie, boală extrapulmonară.

Boala non pneumonică – febra de Pontiac – este considerată punte între forma subclinică și pneumonie. Poate fi determinată de *L. pneumophila*, *L. micdadei*, *L. feeleyi* și *L. anisii*.

Boala legionarilor este o pneumopatie severă cu incubare de 2-10 zile. Evoluează cu leziuni de alveolită fibrinoasă și supurative extinse la unul sau mai mulți lobi, uni- sau bilateral. Legionelele abundă în leziuni și sunt localizate intracelular. Se multiplică în fagolizozomi fiind rezistente la enzimele lizosomale. Rar *Legionella pneumophila* depășește focarele pulmonare.

Pacienții au febră mare, tuse neproductivă, alterarea stării generale, vomă și tulburări psihice. Două complicații sunt frecvente și grave: detresa respiratorie și insuficiența renală. Mortalitatea este între 10 și 20%. Patogenia complicațiilor ar putea fi explicată prin acțiunea exotoxinelor vehiculate de circulația sangvină.

Infecții extrapulmonare, uzual ale plăgilor (inclusiv postoperatorii) sunt determinate de *L. pneumophila* și *L. micdadei*, rar de alte specii.

(8) Imunitatea celulară este esențială. Anticorpii circulanți au rol opsonizant, dispar după câteva luni și au rol modest în imunitate. După vindecarea clinică legionelozele pot evolua ca infecții latente.

(9) Diagnosticul de laborator. **Diagnosticul direct** este dificil. Examinăm, în funcție de forma clinică a bolii: spută (rezultate puțin satisfăcătoare), exsudate bronho-pulmonare prelevate invaziv (Capitolul 44.2.), amprente din probe pulmonare biopsice ori necropsice, frotiuri din omogenatul acestora; exsudate din seroase (când există), sânge, puroi.

Microscopia directă este puțin sensibilă în raport cu izolarea în cultură. Indicate sunt colorația imunofluorescentă pentru frotiuri (posibile reacții încrucișate prin înrudiri antigenice cu pseudomonade, *Bordetella*, *Bacteroides* spp) și o impregnație argentică pentru secțiunile histopatologice.

Speranțe sunt în reacția de amplificare genică (PCR).

Însămânțarea pe mediul BCYE- α și urmărirea culturii trebuie făcute numai la cererea expresă a clinicianului.

Diagnosticul indirect. Majoritatea legionelozelor sunt identificate prin serodiagnostic. Reacții indicate sunt imunofluorescența indirectă și, mai ales, reacția de microaglutinare ori ELISA. Anticorpii apar după cca o săptămână de la debutul bolii, ating maximum după o lună și dispar după 2-3 luni (rar după 12-18 luni). Un titru de 1/128-1/256 în probă unică de ser are

Legionele

valoare prezumtivă în reacția de imunofluorescență indirectă și ELISA. Semnificație clinică certă are seroconversia sau dinamica semnificativă a anticorpilor depistați în seruri perechi (☞ Subcapitolul 39.3.2.).

(10) Elemente de terapie etiotropă. Testarea *in vitro* nu se corelează cu răspunsul clinic, datorită probabil localizării intracelulare a legionelelor. Active clinic sunt macrolidele, care sunt antibiotice de elecție, rifampicina și fluorochinolonele. Mortalitatea crescută a fost corelată cu întârzierea inițierii terapiei cu eritromicină.

(11) Epidemiologie Sursa de infecție este acvatică (toate tipurile de rezervoare de apă). Transmiterea se face esențial prin aerosoli (instalații de condiționare a aerului, nebulizatoare etc.). Receptivitatea la legioneloze este mai mare după vârsta de 50 de ani, la imunosupresați, la tabagici sau alcoolici.

Majoritatea infecțiilor sunt sporadice. Epidemii explozive, de mai mică sau mai mare amploare, apar când legionelele sunt aerosolizate dintr-o sursă cu mare concentrație bacteriană (e.g., sisteme de climatizare sau de distribuție a apei calde în marile hoteluri, spitale, localuri administrative). Localizarea sursei de infecție este favorizată prin marcheri epidemiologici cum sunt subtipurile antigenice. În cazurile sporadice sursa de infecție nu este de regulă depistată.

Nu există contagiu interuman.

(12) Profilaxia este posibilă, dar costisitoare: controlul și dezinfecția periodică a rezervoarelor de apă care la utilizare generează aerosoli; furnizarea apei menajere la temperaturi care omoară legionelele.

DANIELA BOSNEA

„Acest bacil se găsește pe un petec de țesut mort din laringele unui copil, el pândește dintr-un punct mic de sub pielea cobaiului; el nu mișună cu milioanele și totuși ucide! Cum se poate una ca asta?”

FRIEDRICH LOEFFLER, 1890

16.1. BACTERII CORINEFORME

Fără a forma o grupare taxonomică adevărată, aceste bacterii au în comun unele caractere microscopice, de cultură și biochimice:

- Sunt bacili gram-pozitivi, neacidorezistenți, nesporulați; apar dreپți sau ușor încurbați, cu extremitățile măciucate sau ascuțite, așezați în mici grămezi neregulate sau în palisade. Frecvent se colorează neuniform datorită granulațiilor de polimetafosfat ce au și caracter metacromatic (apar roșii în colorația cu albastru de metilen policrom).

- Cresc pe medii uzuale, cu excepția corinebacteriilor lipofile. Nici o specie nu poate crește pe mediile pentru enterobacteriacee.

- Marea majoritate a speciilor sunt indol-negative, oxidază-negative și catalază-pozitive.

Speciile implicate în patologia infecțioasă habitează, în general, tegumentul și mucoasele omului. *Corynebacterium pseudotuberculosis* și *C. ulcerans* au habitat animal, iar *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Microbacterium* și *Oerskovia* sunt izolate din ambient (sol, plante, ape reziduale).

16.1.1. Genul *Corynebacterium*

Minidefiniție. Genul *Corynebacterium* (gr. *coryne* măciucă; gr. *bakterion* mic baston), reunește bacili gram-pozitivi, măciucați, dispuși în unghiuri și palisade. Cultivă optim la 37°C, pe medii cu adaos de sânge sau ser. Creșterea speciilor lipofile este stimulată sau dependentă de prezența lipidelor (Tween 80, acid oleic, gălbenuș de ou) în mediul de cultură. Unele specii sunt facultativ anaerobe (fermentative), altele strict aerobe (nonfermentative).

Identificarea speciilor este posibilă prin studiul caracterelor biochimice.

16.1.1.1. Grupul *Corynebacterium diphtheriae*

Membrii acestui grup, *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* și *C. pseudotuberculosis*, se diferențiază de alte specii ale genului (bacili difterimorfi) prin capacitatea lor de a produce exotoxine, biochimic și particularități de structură chimică a peretelui celular.

16.1.1.1.A. *Corynebacterium diphtheriae*. Bacteria a fost observată de Klebs în exsudatul membranos al pacienților cu difterie în 1883 și izolată un an mai târziu de Loeffler. Infecția determinată a fost numită de Bretonneau (1826) difterită deoarece falsele membrane ce caracterizează boala seamănă cu pielea prelucrată (gr. *diphtheros* piele).

(1) **Habitatul** este strict uman.

(2) **Caractere microscopice.** În frotiurile din produs patologic, bacilii difterici apar lungi, fini, granulari, așezați frecvent izolat sau în perechi de forma literelor unghiulare. Uneori granulațiile sunt repartizate preferențial la extremități, oferind bacteriei aspect măciucat. În frotiurile realizate de pe mediile cu ser (Loeffler), bacilii apar mai frecvent dispuși în perechi și grămezi neregulate, dar de pe alte medii caracterele morfotinctoriale sunt variabile, sugerând totuși o corinebacterie (CD 16-1).

(3) **Caractere de cultivare.** Bacteria cultivă greu sau deloc pe geloză-nutritivă. Sunt utilizate pentru izolarea din produsul patologic mediile cu sânge sau ser și adaos de telurit de potasiu ce funcționează ca agent selectiv. Bacilii difterici reduc teluritul la telur metalic, încorporat în cultură și astfel coloniile apar gri sau negre, dar această proprietate o au și alte specii ale genului. Pe mediul Tinsdale, ce conține și cistină, *C. diphtheriae* produce H_2S și coloniile negre apar înconjurate de un halou brun (CD 16-2). Pe mediul electiv Loeffler (cu glucoză și ser de bou coagulat în pantă) crește în 10-18 ore de la însămânțare și produce colonii albe, lucioase, bombate, asemănate cu picăturile de spermanțet.

Pe baza caracterelor biochimice și de cultivare au fost descrise trei tipuri de *C. diphtheriae*: *gravis*, *mitis* și *intermedius*, denumiri asociate cu gradul de severitate al infecției determinate, dar relația tip-gravitate a difteriei nu este constantă.

Pe mediile cu sânge, tipul *intermedius*, lipofil, produce colonii mici (0,5 mm), transparente, nehemolitice, după 48 de ore de incubare aerobă la 37°C. Tipurile *gravis* și *mitis* cresc cu ușurință și formează colonii mari (2-4 mm), înconjurate de o zonă îngustă de β -hemoliză.

Diferențierea precisă a speciilor de *Corynebacterium* și a biotipurilor de *C. diphtheriae* o facem biochimic.

(4) **Rezistența în mediul extern.** Pe mediile de cultură, bacilii difterici rămân viabili, la temperatura camerei, cel puțin două săptămâni. Mor în 10 minute la 58°C și într-un minut la 100°C. Sunt mai rezistenți decât alți bacili gram-pozitivi nesporulați la desicare și acțiunea radiațiilor solare. În praf, lenjerie, produse patologice, își păstrează virulența timp de 5 săptămâni sau mai mult. Sunt sensibili la antisepticele și dezinfectantele uzuale.

(5) **Structura antigenică.** Specia este antigenic heterogenă. Prin reacții de aglutinare, *C. diphtheriae gravis* a fost împărțit în 13 tipuri, *intermedius* în 4 tipuri iar *mitis* în 40 de tipuri. Nu a fost stabilită nici o asociere între serotipuri și alte caractere ale bacteriei.

(6) **Factori de virulență.** Tulpinile virulente de bacil difteric produc o exotoxină puternică și acest caracter este legat de găzduirea profagului β purtător de genă *tox*. Toxină difterică este o proteină cu structură A-B: (i) fragmentul A cu proprietăți catalizatoare și (ii) fragmentul B cu două domenii: unul intern, ce poate fi translocat și cel de-al doilea cu rol de legare la receptori specifici de pe celula eucariotă. După recunoașterea receptorilor, toxina intră în celulă prin endocitoză. Fragmentul A, activat după reducerea punții disulfidice care îl leagă de fragmentul B, catalizează ADP-ribozilarea factorului de elongare 2 și inhibă, astfel, translocarea lanțurilor polipeptidice de pe aminoacil-ARNt pe poziția peptidil-ARNt în ribosom. Rezultatul este oprirea sintezei proteice (fig. 6-2).

Toate celulele sunt receptive la toxina difterică, dar simptomatologia este dominată de manifestările neurologice și cardiace. Moartea este frecvent consecința insuficienței cardiace acute, dar leziuni hemoragice și necrotice pot fi remarcate la nivelul oricărui țesut sau organ. Introducerea unei singure molecule de fragment A într-o celulă eucariotă determină moartea acesteia în câteva ore.

(7) **Patogenitatea naturală și patogenie.** La om, bacilul difteric toxigen determină difteria. Cel mai frecvent apare ca o faringită severă, cu false membrane care pot coborî cu

formare de crup laringian și provoacă asfixie mecanică letală (CD 16-3,4,5). Toxina se resoarbe în circulația generală și faza sistemică este caracterizată prin toxemie, miocardită, paralizii ale sistemului nervos periferic. În afară de angina difterică, tulpinile toxigene mai pot determina otite, conjunctivite, vulvovaginite și infecții ale plăgilor. În 32%-73% dintre cazuri, bacilii difterici sunt izolați din leziunea faringiană sau cutanată împreună cu *Streptococcus pyogenes*, dar nu a fost demonstrată experimental ipoteza patogeniei prin synergism microbial.

Boala a putut fi reprodusă la cobai și iepuri; șoarecii și șobolanii sunt rezistenți la infecția difterică. Inocularea subcutanată a unei culturi toxigene la cobai determină apariția în 8-12 ore a unui edem local ce se extinde treptat și capătă aspect hemoragic, centrat de o arie necrotică. Moartea survine după 24-96 de ore de la inoculare iar la necropsie se constată viscere congestive și infarctizarea suprarenalelor, responsabilă de deces.

Tulpinile netoxigene determină infecții cutanate și respiratorii, artrite supurative, endocardite, fără toxemie. Patogenia acestor infecții nu este cunoscută, dar este presupusă existența unor factori de virulență adiționali.

(8) Imunitatea antidifterică este asigurată de anticorpi antitoxici în concentrații mai mari de 0,01 unități/mL. Protecția este de durată numai când titrul anticorpilor antidifterici, determinat prin ELISA sau hemaglutinare pasivă, este mai mare de 1 unitate/mL. Pentru indivizii cu titruri mai mici (între 0,01 și 0,9 unități antitoxice/mL) este recomandată monitorizarea anuală a statusului imun antidifteric.

(9) Diagnosticul de laborator al difteriei are rolul de a confirma suspiciunea clinică și de a iniția măsurile epidemiologice în focar. Sunt prelevate trei tampoane din exsudatul faringian și un tampon nasal. Deoarece falsă membrană conține majoritar bacterii moarte, prelevarea exsudatului faringian impune detașarea membranei și ștergerea suprafeței subjacente. Un tampon faringian este utilizat pentru efectuarea frotiului, un al doilea este descărcat pe medii solide (geloză-sânge și Tinsdale), iar cel de-al treilea tampon este introdus în mediu de îmbogățire OST (ou-ser-telurit). Tamponul nasal este, de asemenea, însămânțat în mediul OST. După 24 de ore de incubare aerobă la 37°C, coloniile suspecte de pe mediul Tinsdale sunt repicate pe mediul Loeffler, iar din OST sunt efectuate pasaje pe mediul Tinsdale. Din cultura de pe mediul Loeffler sunt realizate: frotiuri colorate Gram și teste biochimice.

După identificarea speciei pe baza caracterelor morfotinctoriale, de cultură și biochimice, trebuie demonstrată toxigeneza prin unul din următoarele teste:

(i) *Test de neutralizare in vivo*. Cultura în bulion a tulpinii de testat este inoculată intradermic la doi cobai, dintre care unul, martorul, este protejat prin administrarea de antitoxină difterică cu 24 de ore înaintea testului. Al doilea cobai rămâne neprotejat. Producerea de toxină difterică este demonstrată de apariția inflamației și necrozei la locul inoculării în cazul cobaiului neprotejat și absența oricărei modificări la cobaiul-martor.

(ii) *Testul Elek*. Pe suprafața unui mediu de cultură cu ser de cal, oaie sau iepure este plasată o bandă din hârtie de filtru impregnată cu antitoxină difterică. Cultura de testat, o tulpină cunoscută ca toxigenă și o tulpină netoxigenă sunt însămânțate sub formă de striuri perpendiculare de banda impregnată. Placa este incubată pentru 24-48 de ore și prezența liniilor de precipitare în agar ilustrează toxigeneza tulpinii testate.

(iii) *Toxicitatea pe linii de celule Vero*. Tulpina testată este încorporată într-o cantitate mică de agar ce va fi turnat peste filmul celular. În timpul incubării, toxina produsă difuzează în stratul subjacent și determină moartea celulelor eucariote.

(iv) *Reacția de amplificare genică (PCR)*. Ca secvență oligonucleotidică promotoare este utilizată gena *tox*. Rezultatul este obținut în cca 6 ore de la izolarea bacilului difteric și tehnica poate fi utilizată și în cazul culturilor mixte.

Depistarea purtătorilor sănătoși de bacili difterici se bazează pe prelevarea a două

Bacili gram-pozitivi nesporulați

tampoane, nasal și faringian, și însămânțarea lor în OST. Prelucrarea probelor este făcută după etapele prezentate mai sus.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Tratatamentul difteriei constă în administrarea de antitoxină difterică la care sunt asociate apoi antibiotice: penicilină, eritromicină, cefalotină, tetraciclină, gentamicină sau ciprofloxacina.

(11) Epidemiologie. Rezervorul de infecție este omul bolnav sau purtătorul sănătos. Convalescenții de difterie pot găzdui bacilul în nas sau nasofaringe pentru săptămâni sau luni. În marea majoritate a cazurilor dispare din faringe după cca 1-2 săptămâni de la inițierea chimioterapiei, dar poate persista pe mucoasa nasală mai mulți ani sau chiar toată viața. Rata portajului de bacil difteric toxigen nu depășește 1% în populația generală imunizată. Tulpini de *C. diphtheriae* netoxigen sunt găzduite în faringe de 5% dintre drogații intravenos.

Bacilul difteric este vehiculat de la sursă spre gazda receptivă prin picături Flügge sau prin obiecte contaminate cu secreții nasofaringiene.

Receptivitatea la infecție este maximă între 2 și 5 ani și scade treptat până la vârsta adolescenței fie ca urmare a vaccinării, fie ca o consecință a infecției naturale.

Deși omul este virtual singura gazdă naturală a bacilului difteric, au fost descrise cazuri de mastită difterică la vaci, contaminate de personalul de îngrijire, bolnav sau purtător sănătos de *C. diphtheriae*.

(12) Profilaxia difteriei este bazată pe metode nespecifice, adresate infecțiilor aerogene în general și prin metode specifice – vaccinarea și chimioprofilaxia. În România, anatoxina difterică este administrată în cadrul trivaccinului anti-diftero-tetano-pertussis tuturor copiilor cu vârsta între 6 și 9 luni. După primovaccinare, titrul anticorpilor este sub 0,01 unități/mL, adică neprotector. Crește la 0,1 unități/mL după două rapeluri, dar scade semnificativ la vârsta adultului. De aceea este necesară monitorizarea stării de imunitate antidifterică în populația generală și revaccinarea persoanelor neprotejate.

Chimioprofilaxia este recomandată contactilor de difterie și constă în administrarea de eritromicină timp 7-10 zile sau de benzatinpenicilină în doză unică. În cazul contactilor cu concentrații de antitoxină sub 0,01 unități/mL este necesară și vaccinarea.

16.1.1.1.B *Corynebacterium ulcerans* are caractere de cultură și morfotinctoriale foarte asemănătoare biotipului gravis de *C. diphtheriae*. Diferă de acesta prin unele caractere biochimice. Produce toxină difterică și fosfolipază D, ce determină leziuni ulcerative și nu este neutralizată de 1000 unități de antitoxină difterică. Este un patogen animal și poate determina îmbolnăviri ocazionale la om: infecții ale țesuturilor moi, endocardite, faringite, difterie.

16.1.1.1.C. *Corynebacterium pseudotuberculosis* formează pe medii cu sânge colonii de 0,5-1mm diametru, albe, opace, uscate, înconjurate de o zonă de β-hemoliză discretă. Pe preparate microscopice nu poate fi deosebit de *C. diphtheriae* și *C. ulcerans*. Creșterea este stimulată de prezența lipidelor în mediu. Toate tulpinile produc fosfolipază D, înrudită antigenic și structural cu cea produsă de *C. ulcerans*. Aproximativ 10% dintre indivizii speciei produc toxină difterică, dar nu determină infecții la om. Produce limfadenită la oi și capre, limfangită ulcerativă și abcese la cai.

16.1.1.2. Specii difteroides

Alte specii de *Corynebacterium*, datorită asemănării microscopice cu bacili difterici sunt numiți generic bacili difteroides sau difterimorfi. Găzduim asemenea specii în microbiota tegumentului, tractusului respirator superior, orofaringelui și în măsură mai redusă în tractusul genital inferior.

Toate aceste specii sunt mai rar sau mai frecvent implicate în infecții, unele foarte grave, ale gazdelor imunocompromise. Ne oprim, spre exemplificare, la câteva:

Corynebacterium jeikeium este o specie lipofilă umană care cauzează bacteriemii, endocardite, infecții ale protezelor cu inserție tisulară, infecții ale țesuturilor moi, osteomielite, infecții respiratorii sau urinare. Rata mare de mortalitate cu care evoluează

infecțiile sistemice determinate de acest bacil se datorează reactivității deficitare a gazdei, dar mai ales *rezistenței naturale la majoritatea antibioticelor*. Este sensibilă doar la vancomicină și gentamicină.

Corynebacterium minutissimum era cunoscut doar ca agent etiologic al eritrasmei, o infecție a tegumentului axilar ori pubian caracterizată prin fluorescență roză când leziunile sunt examinate sub radiație ultravioletă. Și cultura de *C. minutissimum* pe mediul Mueller-Hinton este fluorescentă. În prezent gama infecțiilor determinate de *C. minutissimum* este mult mai largă și include: bacteriemii și peritonite de cateter, endocardite și infecții ale protezelor tisulare, infecții respiratorii, ale sânelui ș.a.

Corynebacterium urealyticum determină infecții urinare care duc la formare de calculi vezicali datorită alcalinizării urinei, dar este implicat și în infecții sistemice sau localizate.

Alte specii de bacili difterimorfi izolate din microbiota indigenă, dar implicate și în unele infecții sunt: *C. pseudodiphtheriticum*, *C. xerosis*, *C. striatum* etc.

16.1.2. Alte bacterii corineforme

Genul *Turicella*. Cuprinde bacili gram-pozitivi strict aerobi, nefermentativi, neoxidativi, catalază pozitivi. *Turicella otitidis*, singura specie a genului, este deseori confundată cu unele corinebacterii și de aceea importanța ei în patologia umană este subapreciată. Determină infecții ale cavităților conectate tractusului respirator superior, posibil și otite medii.

Genul *Brevibacterium*. Include bacili gram-pozitivi aerobi, nefermentativi, proteolitici, catalază pozitivi. Prezintă ciclul coci-bacili când sunt cultivați pe medii complexe: în culturile mai vechi apar cocoizi și se decolorează cu ușurință.

Sunt saprofizi ai mediului extern și comensali în microbiota flotantă a omului sau animalelor. Pot determina peritonite și bacteriemii după cateterizare peritoneală sau venoasă prelungită.

Genul *Oerskovia*. Morfologic, bacteriile din acest gen sunt caracterizate prin hife vegetative extensiv ramificate, ce se dezvoltă în profunzimea agarului și se fragmentează, la suprafața mediului, în bacili gram-pozitivi cocoizi. Nu formează miceliu aerian. Crește pe medii simple și formează, după 24-48 de ore de incubare aerobă, colonii mari, de 2-3 mm, pigmentate în galben, maro, roz sau verde.

Cele două specii cu importanță medicală, *O. xanthineolytica* și *O. turbata*, sunt diferențiate biochimic.

Habitează normal în sol și ape reziduale. Contaminează ocazional omul și determină bacteriemii, peritonite, micetoame, în special la gazde cu apărarea antimicrobiană compromisă.

Cellulomonas hominis este izolată obișnuit din deșeuri celulozice, sol. Este semnalată cauză de bacteriemii și meningite.

„*Corynebacterium aquaticum*” este o specie afiliată numai provizoriu genului *Corynebacterium*. Habitatul natural nu i-a fost precizat. Este relativ frecvent cauza unor bacteriemii și poate cauza infecții urinare.

16.2. GENUL *LISTERIA*

Minidefiniție. Genul *Listeria* (numit în memoria lui J. Lister) reunește bacili gram-pozitivi, nesporulați, mobili prin flageli peritrichi. Cultivă pe medii uzuale, în limite largi de temperatură (0°-45°C), în atmosferă aerobă sau microaerofilă. Sunt catalază-pozitivi, oxidază-negativi și fermentează zaharurile fără producere de gaz.

Dintre cele șase specii ale genului, interes medical prezintă *L. monocytogenes* și, foarte rar, *L. ivanovii* și *L. seeligeri*.

(1) Habitat. *Listeria monocytogenes* este o bacterie saprofită a mediului extern și a fost izolată de la o gamă largă de mamifere, păsări, crustacee. Colonizează ocazional omul, în special după consumul de apă sau alimente contaminate.

(2) Caractere microscopice. Apare sub formă de bacili gram-pozitivi, fini, cu lungime variabilă. În prelevate sunt mai frecvent dispuși izolat, intra- sau extracelular. În frotiurile din cultură pot fi așezați în perechi sau lanțuri scurte (CD 16-6). În culturile tinere domină formele cocobacilare, dar în culturile mai vechi pot apare filamentoși. Sunt mobili, caracter mai evident în cazul menținerii la 18°-25°C, condiții în care produc numeroși flageli

peritrichi. La 37°C, mobilitatea scade ca urmare a reducerii numărului de flageli (2-4, situați subterminal).

(3) Caractere de cultivare. Cultivă optim la 20°-37°C, pe medii suplimentate cu sânge, glucoză sau lichid de ascită, în atmosferă microaerofilă cu 5-10% CO₂. După 24-48 de ore de incubare în astfel de condiții formează colonii cu diametrul de cca 1 mm, rotunde, convexe, transparente. Produc o zonă de β -hemoliză discretă, uneori dificil de evidențiat (CD 16-7,8). Cultura degajă miros caracteristic, de lapte acidulat. După însămânțarea prin înțepare în medii semisolide, *L. monocytogenes* crește inclusiv pe suprafața coloanei de mediu, „în umbrelă”, o metodă simplă de a-i demonstra mobilitatea.

Diferențierea de alte specii ale genului o facem biochimic.

(4) Rezistența în mediul extern. Foarte rezistentă în mediul extern, *L. monocytogenes* este distrusă după o oră la 55°C și abia după 5 minute la 80°C căldură umedă, deci pasteurizarea laptelui poate fi uneori inefficientă. În laborator, crește pe medii cu 0,1% telurit de potasiu, pe medii hiperclorurate sau cu pH alcalin (9,6).

(5) Structura antigenică. Specia este împărțită în 13 serovaruri pe baza antigenelor somatice și flagelare, dar unele dintre acestea sunt comune și altor reprezentanți ai genului.

(6) Factori de virulență. Listeriile sunt bacterii cu potențial invaziv, facultativ intracelulare. Principalii factori de virulență sunt: (i) *internalina*, cu structură și funcții asemănătoare proteinei M streptococice; (ii) *proteina p60*, o murein-hidrolază și (iii) *proteina ActA*, cu rol în polimerizarea actinei din celula agresată și difuzarea bacteriei spre celulele adiacente. Alte trei enzime – lecitinaza, fosfolipaza C și listeriolizina O (hemolizină) contribuie la patogenitatea microorganismului.

(7) Patogenitate naturală și patogenie. După ingestie, *L. monocytogenes* se multiplică în enterocite, este translocată prin mucoasa intestinală în sistemul limfoid asociat intestinului și preluată de macrofage. Diseminează bacteriemic cu afectare secundară a encefalului, meningelui, endocardului, placentei.

Listerioza este o zoonoză ce afectează în principal ierbivorele, după consumul de furaje contaminate. La animalul adult determină septicemie și encefalită letale. La vacile și oile gestante, bacteriemia se soldează cu moartea fătului, urmată de avort sau naștere prematură. După eliminarea produsului de concepție, animalul rămâne asimptomatic dar bacteria este găzduită în glandele mamare și uter pentru luni sau ani de zile.

Infecția la om, contractată accidental, are patogenie similară. Listerioza perinatală include avortul spontan, naștere prematură sau nașterea la termen a unui copil contaminat ce va dezvolta, în primele 7-14 zile de viață, sepsis sau/și meningită fatale. În toate cazurile, produsul de concepție prezintă leziuni granulomatoase diseminate. La mamă, listerioza evoluează autolimitat, deși bacteria poate fi izolată din hemoculturi.

La adultul imunocompetent, infecția cu *L. monocytogenes* evoluează inaparent. Sunt totuși descrise, mai ales la alcoolici, cazuri de meningită sau meningoencefalită, cu febră, cefalee, vărsături, ataxie, tremor, ceea ce reflectă tropismul bacteriei pentru sistemul nervos central. La gazda imunocompromisă, listerioza evoluează bacteriemic, cu metastaze endocardice, hepatice, splenice, precum și cu leziuni de oftalmită sau osteomielită.

Recent, bacteria a fost implicată în producerea toxoinfecțiilor alimentare severe, după consumul de ciocolată cu lapte, brânzeturi fermentate sau salată de crustacee.

Sunt descrise în literatură cazuri de listerioză cutanată, manifestată prin febră și erupție cutanată. Are caracter de boală profesională deoarece afectează veterinarii și lucrătorii din zootehnie ce vin în contact direct cu animalele bolnave.

(8) Imunitatea în listerioză este mediată celular.

(9) Diagnosticul de laborator al listeriozei este direct, bazat pe izolarea microorganismului din sânge și lichid cefalorahidian. Pot fi utilizate bulionul thioglicolat sau

infuzia cord-creier și geloză-sânge pentru efectuarea subculturilor. Pentru însămânțarea probelor de alimente sau a exsudatelor genitale și fecalelor, sunt necesare medii selective, e.g., agar PALCAM (polimixină, acroflavină, clorură de litiu, ceftazidim, esculină, manitol), pe care *L. monocytogenes* formează colonii cenușii sau negre, înconjurate de un halou brun-închis (CD 16-9).

Identificarea bacteriei este făcută pe baza caracterelor microscopice, de cultură și biochimice descrise; este util și testul CAMP, eventual și testul de patogenitate pentru cobai sau șoareci imunocompromiși.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Tratatamentul de elecție al listeriozei este reprezentat de asocierea ampicilină sau penicilină cu gentamicină. Pacienților alergici la peniciline, le pot fi administrate macrolide sau cotrimoxazol.

(11) Epidemiologie. Sursa de infecție pentru animale sunt apa, furajele, iar transmiterea este fecal-orală. Omul contractează infecția prin ingestia de legume contaminate sau lapte și derivate provenite de la animale purtătoare sau bolnave. Este posibilă și transmiterea prin contact direct, în special la veterinari, cu ocazia îngrijirii animalelor parturiente. Gazde cu receptivitate maximă la infecție sunt gravidele, nou-născuții, persoane cu deficit al apărării celulare (bolnavi cu SIDA, hemopatii maligne, neoplazii), pacienții cu ciroză etilică.

(12) Profilaxia listeriozei la animale constă în evitarea administrării furajelor degradate. Vaccinarea are eficiență discutabilă. Listerioza umană poate fi prevenită prin: evitarea consumului de salată de raci sau homari, brânzeturi fermentate, produse semipreparate, încălzirea până la fierbere a mâncărilor gătite, spălarea la jet puternic de apă a fructelor și legumelor, evitarea contactului direct cu animalele posibil contaminate. Nu există vaccin pentru uz uman.

16.3. *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*

A fost izolat în 1883 de L. Thuiller și L. Pasteur din sângele porcilor bolnavi de rujet. Infecția la om a fost descrisă în 1909 de F.J. Rosenbach.

Minidefiniție. Genul *Erysipelothrix* reunește bacili fini, imobili, nesporulați, cu tendință la creștere filamentoasă. Sunt gram-pozitivi, dar se pot decolora ușor și pot apărea gram-negativi. Pretențioși nutritiv, facultativ anaerobi și carboxifili. Sunt catalazo-negativi și oxidazo-negativi.

Dintre cele două specii ale genului: *E. rhusiopathiae* și *E. tonsillarum*, ambele cu **habitat** animal, interes medical prezintă numai prima. De la gazda naturală (crustacee, pești, păsări, mamifere) ajung să contamineze solul, apele de suprafață sau reziduale.

Microscopic, *Erysipelothrix rhusiopathiae* apare ca un bacil gram-pozitiv cu tendință crescută la decolorare, fin, nesporulat, imobil. În culturile S, bacilii, cu caracterele descrise, sunt dispuși izolat, în perechi sau scurte lanțuri. În culturile R predomină formele filamentoase, cu lungimi până la 60 μm și aspect granular.

Cultivă optim pe geloză-sânge sau geloză cu sânge ciocolatat, la 35°-37°C în atmosferă cu 5-10% CO₂. Microaerofil în primocultură, devine aerob prin subcultivare repetată. După 24-48 de ore de incubare în aceste condiții, formează colonii mici, de cca 0,5 mm, rotunde, convexe, lucioase, transparente, înconjurate de o zonă îngustă de α-hemoliză. În subculturi, poate fi observată variația S-R, cu forme intermediare. Coloniile R sunt mai mari, aplatizate, cu suprafața ondulată și contur neregulat. Poate crește pe mediile cu telurit de potasiu și formează colonii mici, negre. Specia este individualizată biochimic.

Structura antigenică a bacteriei include două antigene termolabile și un antigen termorezistent, ce împarte specia în 26 de serotipuri notate cu cifre arabe și un serotip N ce cuprinde tulpinile care nu reacționează cu serurile imune cunoscute.

Bacili gram-pozitivi nesporulați

Virulența bacilului este asigurată de adezine, o structură de suprafață similară capsulei, cu proprietăți antifagocitare și două enzime, hialuronidaza și neuraminidaza ce clivează acidul sialic prezent în învelișul celulelor eucariote.

Patogenitate naturală și patogenie. *Erysipelothrix rhusiopathiae* afectează cel mai frecvent porcinele, dar au fost descrise izbucniri epidemice la oi și găini. Erizipelul porcin are patru forme clinice: septicemia, urticaria, endocardita și artrita cronică. Leziunile cutanate sunt constant prezente, cu aspectul tipic de pete romboidale în forma urticariană. Mortalitatea în formele septicemice și în cele cu endocardită ajunge la 80%.

Infecția la om este numită erizipeloidul Rosenbach și este consecința inoculării microorganismului în țesutul subcutanat. După o perioadă de incubație de 10-14 zile, la locul inoculării apare o papulă, foarte dureroasă, cu tendință la extindere în suprafață. Poate evolua spre vindecare spontană sau spre: (i) limfangită și limfadenită; (ii) infecție sistemică cu febră și flictene la locul inoculării; (iii) sepsis și endocardită sau, mai rar, meningită, glomerulonefrită, abces cerebral, osteomielită.

Diagnosticul de laborator în formele cu prindere cutanată se bazează pe examenul bacteriologic al biopsiilor prelevate de la periferia zonei de celulită. Menținerea fragmentelor biopsice în soluție de glucoză 1%, înainte de prelucrare, ameliorează șansele de izolare a bacteriei. În formele sistemice, hemoculturile sunt frecvent pozitive. Serotiparea izolatelor nu este utilă. Deși apar anticorpi umorali, examenul serologic nu contribuie la confirmarea diagnosticului.

Tratamentul erizipeloidului constă în administrarea de penicilină G, cefalosporine, macrolide, clindamicină sau fluorochinolone. Spre deosebire de alte microorganisme gram-pozitive, *E. rhusiopathiae* nu este sensibil la vancomicină.

Epidemiologie. Sursa de infecție este gazda naturală, vertebrată sau nevertebrată. Erizipeloidul Rosenbach este o boală profesională, contractată de persoane care vin în contact direct cu animale bolnave sau produse ale acestora: veterinari, zootehniști, piscicultori, măcelari, pescari. Receptivitatea este generală, mai crescută în cazul alcoolicilor și persoanelor imunodeprimite.

Profilaxia infecției cu *E. rhusiopathiae* se bazează pe măsurile nespecifice adresate zoonozelor și infecțiilor transmise prin contact direct, în general.

DANIELA BOSNEA

„Jalnic'aici se stârnise-oarecând din stricare de aer
 Molima'n câmp și-aprinsă de tot căldurile toamnei
 Stinse de tot neamul de vite prin văi, tot neamul de fiare,
 Apele'n văi le-otrăvi și iarb'a înciumat-o pe câmpuri
 Semnele-acestea le-aveau în primele zile-ale morții
 Ochii le'ncep sa le ardă grozav, și-adâncă suflare
 Lung și tăiată și-o trag cu gemete-amare și-n lungul
 Coastelor toate din coș icnesc de sughițuri, dă sânge
 Negru pe nări, și'n gâtul umflat au limba uscată
 Iată-l cum înc'aburind de-a plugului muncă și boul
 Cade și sânge pe gură vărsând cu spume'n amestec
 Ultimul gemet și-l dă...

Până să'nvețe a le strânge prin gropi și-adânc să le'ngroape.
 Lâna nu mai puteau, nici firul cel putred să-l țeară
 Dacă'ncerca s'âmbrace vr'un om spurcatele haine,
 Bube'nfocate-l umpleau cu multă'npuțită sudoare”

P. VERGILIUS MARO, *Georgice* III, 478–81, 504–8, 515–17

558, 562–64

17.1. GENUL *BACILLUS*

Minidefiniție. Genul *Bacillus* (lat. *bacillum*, mic bastonaș) cuprinde bacili gram-pozitivi sporulați; cei mai mulți mobili prin flageli peritrichi. Aerobi sau facultativi, sunt oxidazo-pozitivi și, cei mai mulți catalazo-pozitivi. În acest gen ubicuitar distingem: (i) o specie înalt patogenă pentru mamifere și om, *B. anthracis*, (ii) specii oportuniste, asemănătoare cu *B. anthracis*, numite generic bacili antracoizi: *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* și (iii) alte specii cu caractere morfologice și fiziologice diferite: *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. sphaericus*. Diferențierea speciilor de bacili antracoizi și a altor specii de *Bacillus* o facem biochimic.

17.1.1. *Bacillus anthracis*

(1) **Habitat.** *Bacillus anthracis* este natural găzduit de ierbivore și poate contamina, prin secrețiile orale și excretele animalelor bolnave, elemente ale mediului extern unde, grație sporilor, supraviețuiește zeci de ani.

(2) **Caractere microscopice.** Sunt bacili gram-pozitivi mari, până la 10 μm lungime, cu extremitățile tăiate drept sau ușor concave, imobili. În frotiurile din produs patologic sunt așezați în perechi sau scurte lanțuri și înconjurați de o capsulă unică. În colorația simplă cu albastru de metilen policrom, capsula apare ca un halou roz în jurul bacteriilor albastre (CD 17-1). Pe frotiurile din cultură, baciliile sunt dispuși în lanțuri lungi și pot fi sporulați. Sporii, formați numai în prezența oxigenului, sunt ovali, centrali cu dimensiuni mai mici sau egale cu diametrul bacilului, astfel că nu îl deformează (CD 17-2).

(3) **Caractere de cultivare.** *Bacillus anthracis*, bacterie facultativ anaerobă, nepretențioasă nutritiv, se dezvoltă în limite largi de temperatură: 12-40°C. Creșterea optimă este la 37°C, iar sporularea este rapidă la temperatura camerei. Pe medii agarizate formează colonii de 2-3 mm, cenușii, aplatizate, cu aspect de sticlă pisată și contur neregulat (CD 17-3,6). Examinată la stereomicroscop, periferia coloniei seamănă cu șuvițe de păr împletit, aspect denumit „cap de meduză” (CD 17-4). Pe mediile cu sânge, coloniile sunt nehemolitice

17.2. GENUL *CLOSTRIDIUM*

17.2.1. Generalități despre clostridii

Descoperirea clostridiilor îi aparține lui Pasteur:

- 1861 când a observat că fermentația butirică are loc numai în absența oxigenului și este datorată vibriunului butiric, probabil actualul *Clostridium butyricum*;
- 1877 când, împreună cu Joubert au observat în sângele unor animale moarte de antrax, un bacil sporulat anaerob, pe care l-au numit vibriion septic, *Clostridium septicum* de azi.

Minidefiniție. Genul *Clostridium* (gr. *kloster* fus) reunește bacili gram-pozitivi, cel puțin în cultura tânără. Majoritatea sunt mobili prin flageli peritrichi (CD-15). Produc endosporii ovali sau sferici care, uzual, deformează celula și sunt termorezistenți. Anaerobi, cu puține specii aerotolerante, nu produc catalază. Unele specii fermentează zaharurile, altele sunt azaharolitice.

Habitează variabil tubul digestiv al omului și animalelor iar prin fecale contaminatează solul unde, grație endosporilor, supraviețuiesc timp îndelungat iar unele specii se și multiplică.

Microscopic clostridiile sunt bacili gram-pozitivi sau gram-variabili. Caracteristici sunt endosporii cu diametru mare, care deformează bacilii; pot fi ovali, dispuși central sau subterminal ori sferici, dispuși terminal (CD 17-10,11). Unele specii nu sporulează pe mediile uzuale de cultivare (CD 17-12).

Cultivă bine, la 37°C, pe medii uzuale incubate anaerob, adică în recipiente etanșe în care aerul este înlocuit prin hidrogen sau azot cu 10% CO₂. În profunzimea tuburilor cu bulion, în coloană de minimum 10 cm, pot fi cultivate chiar în atmosferă obișnuită dacă mediul conține 0,1% agar (agent de limitare a difuziunii gazelor) și un agent puternic reducător (e.g., glucoză și tioglicolat de sodiu, fragmente proaspete de viscere sau carne tocată și uscată). Dacă asemenea medii nu sunt proaspete, trebuie „regenerate”, adică fierte 15 minute pentru îndepărtarea oxigenului, apoi răcite brusc și însămânțate. Câteva specii sunt aerotolerante.

Pe medii solide creșterea este relativ lentă și la cele mai multe specii are caracter invaziv, chiar sub formă de peliculă. Pe geloză-sânge cultura celor mai multe specii este hemolitică.

Fermentarea zaharurilor și metabolizii finali rezultați, capacitățile proteolitice și alte teste biochimice diferențiază numeroasele specii ale genului. Cele mai multe clostridii coagulează și acidifică laptele turnesolat. Unele specii digeră ulterior cheagul.

Rezistența în mediul extern. Formele sporulate rezistă la fierbere cel puțin 5 minute, dar sporiilor unor specii mor la 105°C căldură umedă după 30 de minute sau mai mult. Glutaraldehida și dezinfectantele pe bază de halogeni îi omoară în 2-3 ore, dar în formaldehidă și derivați fenolici, sporiile clostridiilor pot rezista 4-5 zile. În mediul extern, la adăpost de radiațiile solare directe și de umezeală, pot supraviețui zeci de ani. Formele vegetative ale clostridiilor nu sunt deosebit de rezistente la factorii de mediu.

Cu interes medical, dintre numeroasele specii ale genului, sunt: *C. botulinum*, care cauzează botulismul; *C. tetani*, cauză a tetanosului; un grup de specii cu capacități invazive ale țesuturilor, dintre care cea mai importantă este *C. perfringens*; *C. difficile*, un patogen emergent odată cu diversificarea antibioticelor și cauză a enterocolitei pseudomembranoase sau numai a unor sindroame diareice post-antibioticoterapie. În patogeniza acestor boli toxinele și enzimele clostridiale sunt esențiale.

17.2.2. *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum produce, prin conversie lizogenică, o puternică neurotoxină, care are șase tipuri antigenice notate de la A până la F și doza letală pentru om de numai 1-2 µg. Toxinele tip C și D sunt codificate de un profag, care lizogenizează rar și tulpini de *C. butircum*. Toxinele A, B, E, F sunt codificate cromosomal. Al șaptelea tip, toxina G, codificată plasmidic, este deocamdată asociată cu *C. argentinense*, cunoscut și sub numele de *C. botulinum* tip G. Botulismul uman are puține condiții de apariție: ca toxiinfecție alimentară, după colonizarea unor plăgi și după colonizarea intestinului sugarilor sau al adulților.

Specia *C. botulinum* are trei grupe de tulpini diferențiate prin: temperatura optimă de cultivare, activitatea biochimică, termorezistența sporilor și caracterele toxinelor produse.

Grupul I cuprinde tulpini proteolitice ale căror metaboliți finali sunt acizii izobutiric, izovaleric și fenil propionic. *Au sporii cei mai termorezistenți, produc un singur tip de toxină A, B sau F și sunt cei mai frecvenți agenți etiologici ai botulismului și singurii implicați în botulismul plăgilor.*

Grupul II cuprinde tulpini non-proteolitice (numite și zaharolitice) cu temperatura optimă de creștere 20-30°C, ceea ce explică lipsa implicării lor în botulismul plăgilor și incapacitatea de a coloniza intestinul. *Produc neurotoxina de tip B, E sau F. Sporii au termorezistența cea mai redusă și de aceea sunt rar implicați în toxiinfecții prin consum de conserve preparate în casă. Alimentele incriminate sunt: peștele, alte produse alimentare marine, carnea conservată prin sare.*

Toxinele botulinice, rezistente la aciditatea gastrică, sunt termosensibile. De aceea intoxicația apare la cei care au consumat conserva fără o nouă prelucrare termică sau numai cu una superficială.

Grupul III are activitate proteolitică, dar izoacizii nu apar ca metaboliți finali. *Produc toxine de tip C și D neimplicate în botulismul uman.*

Toxiinfecția naturală și patogeneză. Indiferent de tipul sau tulpina producătoare, toxina botulinică este o toxină de tip A-B. Se leagă de celula nervoasă și, pinocitată, ajunge în citosol unde este clivată de peptidaze specifice și inhibă eliberarea acetilcolinei la nivelul joncțiunii neuromusculare. Rezultă paralizii flasce ale diversilor nervi cranieni și, în general, simptomatologie predominant neurologică ce întârzie diagnosticul și terapia specifică. Semnele și simptomele includ: diplopie, pareză palpebrală, dislalie, disfagie, uscăciunea mucoasei orale, hipotonie musculară, tulburări respiratorii până la detresă.

(i) *Toxiinfecția alimentară botulinică* are drept cauză principală ingestia conservelor preparate în casă și ineficient sterilizate în care endosporii germinează și elaborează toxina botulinică. Excepție fac conservele cu pH acid (e.g., compoturi) în care *C. botulinum* nu se dezvoltă. Este determinată de neurotoxinele A, B și E. Confirmarea diagnosticului constă în identificarea toxinei în sângele și fecalele pacienților, eventual în resturile de aliment neconsumate.

(ii) *Botulismul plăgilor* este o infecție rară ce apare astăzi cu predilecție la consumatorii de droguri administrate intravenos. Suspiciunea clinică apare la pacienții cu plăgi care acuză diplopie și disfagie. Diagnosticul de laborator se bazează pe identificarea toxinei în sânge și a bacililor botulinici la locul infecției.

(iii) *Botulismul infantil apare în urma colonizării intestinului cu C. botulinum* producător de toxină A sau B. Excepțional sunt implicate tulpini de *C. botulinum* producătoare de toxină tip C sau E și de *C. baratii* cu toxină de tip F. A fost semnalat la copiii mai mici de 6 luni, care pot oferi condiții fizico-chimice și biologice favorabile dezvoltării *C. botulinum*. Un aliment incriminat în vehicularea sporilor a fost mierea de albine. Diagnosticul se bazează pe

Bacili gram-pozitivi sporulați

evidențierea bacililor botulinici și toxinei în fecalele pacienților; testele pentru depistarea toxinei în sânge rămân, de cele mai multe ori, negative.

(iv) *Colonizarea intestinului* cu *C. botulinum* a fost demonstrată în ultimii ani și la adulții cu soluții de continuitate a mucoasei, fie ca urmare a intervenției chirurgicale, fie pe fondul unor afecțiuni cronice (e.g., boala Crohn). Coprocultura poate rămâne pozitivă pentru bacilii botulinici timp de mai multe săptămâni după dispariția semnelor clinice și a toxinei din sânge.

Imunitatea naturală în botulism nu a fost demonstrată la gazda umană, chiar la indivizi cu infecții repetate în antecedente (☞ Subcapitolul 6.3.1.9.).

Diagnostic. Evidențierea toxinei în probele de la pacienți este făcută prin testul de neutralizare *in vivo*. Prelevatele sterile (e.g., serul sanguin) sunt injectate intraperitoneal la șoarece. După 10-15 minute este injectată antitoxina și animalele sunt urmărite 4 zile pentru surprinderea paralizii flasce. Animalele neprotejate cu antitoxină mor. Prelevatele contaminate (fecale, alimente) sunt însămânțate în câte două tuburi fiecare cu bulion anaerob. Unul dintre tuburi este menținut 10 minute în baie de apă la 80°C pentru omorârea formelor vegetative. Apoi ambele tuburi sunt incubate anaerob cel puțin 4 zile. Cu supernatantul culturilor este efectuat, ca mai sus, testul de seroprotecție la șoareci.

Pentru izolarea *C. botulinum* utilizăm curent mediul Nagler. După 24-48 ore de incubare anaerobă, coloniile lipază-pozitive sunt repicate pentru obținerea culturii pure. Deoarece mai multe specii de *Clostridium* produc lipază, identificarea coloniilor de *C. botulinum* trebuie făcută prin testul de seroneutralizare (☞ mai sus la prelevatele sterile). Demonstrarea toxigenzei se face, de asemenea, prin testul de neutralizare *in vivo*. Într-o primă etapă, din cultura pură sunt inoculate două tuburi cu bulion cu carne prăjită și uscată; unul dintre tuburi este menținut 10 minute la 80°C pentru distrugerea formelor vegetative și apoi ambele tuburi sunt incubate anaerob pentru 4 zile. În a doua etapă, supernatantul culturii este inoculat la șoarece și în cazul în care animalul moare, testul este repetat cu adăugarea de antitoxină pentru identificarea tipului de neurotoxină produs.

Tratamentul specific al botulismului constă în administrarea de ser antitoxic trivalent, ce neutralizează serotipurile A, B și E ale toxinei botulinice, concomitent cu terapia de susținere a funcțiilor vitale.

Epidemiologie. Alimentele incriminate în intoxicațiile botulinice la adult sunt: conservele de legume sau carne, mai ales cele preparate în casă, peștele sărat. În botulismul infantil este incriminată mierea de albine contaminată cu sporii bacilului botulinic, iar botulismul plăgilor este consecința traumatismelor cu obiecte murdărite de praf sau pământ. Este posibilă contaminarea de laborator, ca urmare a manipulării toxinei botulinice în scop de cercetare sau pentru diagnostic. Receptivitatea este generală.

Profilaxia specifică a botulismului este selectivă și constă în administrarea de vaccin polivalent lucrătorilor din grupe ocupaționale cu risc.

17.2.3. *Clostridium tetani*

Habitează natural solul și intestinul animalelor. În mediul spitalicesc, poate contamina bandaje, catgutul, lenjeria, pudra de talc etc.

Microscopic este un bacil mare cu spor sferic terminal, ceea ce îi conferă un aspect particular de băț de tobă sau aș cu gămălie. Pe frotiurile din cultură apare adesea gram variabil (CD 17-11).

Cultivă optim la 37°C, strict anaerob. Pe geloză-sânge formează, după 48 ore, colonii de 4-6 mm diametru, plate, cenușii, cu margini neregulate și suprafața mată, înconjurată de o zonă îngustă de β-hemoliză (CD 17-13).

Identificarea este bazată pe studiul caracterelor biochimice și pe reacția de neutralizare

a toxinei.

Sporii rezistă în condiții de uscăciune zeci și sute de ani.

Clostridium tetani produce doi agenți biologic activi: o neurotoxina numită tetanospasmină, **principalul factor de virulență**, și o hemolizină oxigen-labilă (tetanolizina).

Infecția naturală și patogeneza Pătrunși în organism ca urmare a traumatismelor (plăgi înțepate sau tăiate) cu obiecte contaminate, sporii germinează și elaborează cei doi factori de virulență. Tetanospasmina, toxina proteică A-B, inhibă acidul γ -aminobutiric și astfel influxul nervos nu mai este blocat, cu stimularea exacerbată a neuronilor motori. Rezultă contracturi spastice ale musculaturii striate, inițial ale mușchilor maseteri, apoi și ale altor grupe musculare, cu tendință la generalizare. Sinteza tetanospasminei este codificată plasmidic și au fost izolate tulpini de *C. tetani* netoxigene, lipsite de capacitatea de a produce boala.

Tetanolizina este asemănătoare, structural și funcțional, streptolizinei O. Are activitate litică asupra unei game largi de celule între care: eritrocite, polimorfonucleare, macrofage, fibroblaști. Este reversibil inhibată de oxigen și reactivată de cisteină, glutationul redus, tioglicolat. Are afinitate pentru steroli, compuși ce anihilează efectul toxic și letal al acestei hemolizine. Rolul ei în producerea și progresia tetanosului este neclar, dar inocularea la animale de experiență determină: edem pulmonar acut, modificări ale electrocardiogramei, hemoliză intravasculară.

Diagnosticul de laborator al tetanosului nu este de rutină. Îl practicăm mai frecvent *postmortem*, situație în care prelevatul este reprezentat de țesutul excizat de la poarta de intrare suspectată. Fragmentul de țesut este mojarat și introdus în bulion cu carne prăjită și uscată, cu adaos de gelatină iar mediul inoculat este incubat la 37°C pentru 24-48 ore. Cultura este repicată în spot într-o margine a unei plăci cu geloză-sânge și după 2 zile de incubare anaerobă se constată creșterea difuză a bacteriei pe o mare parte din suprafața mediului. Această subkultură este utilizată pentru identificare biochimică și testarea toxigenezei.

Demonstrarea toxigenezei se face prin inocularea a 0,1 mL cultură în bulion intramuscular la șoarecele alb. Cultura unei bacterii toxigene determină în 24-48 ore paralizia spastică a mușchiului inoculat, extinsă apoi la toate grupele musculare. În paralel, un al doilea șoricel este inoculat cu cultura toxigenă după ce i s-a administrat un volum egal de antitoxină. Animalul nu paralizază datorită neutralizării toxinei de către anticorpii specifici.

Pentru **tratamentul tetanosului**, sunt administrate în paralel serul antitoxic și penicilina G sau metronidazolul. Deși majoritatea autorilor recomandă penicilina, pacienții tratați cu metronidazol au o rată de supraviețuire mai lungă. Antibioticoterapia vizează suprimarea bacililor de la poarta de intrare, iar anticorpii specifici neutralizează toxina circulantă. Convalescenții sunt vaccinați conform schemei complete de imunizare, deoarece infecția naturală nu imunizează.

Epidemiologie. *Clostridium tetani* penetrează organismul uman ca urmare a traumatismelor cu obiecte contaminate sau, mai rar, după intervenții chirurgicale. Contaminarea nou-născutului este posibilă atunci când cordonul ombilical este secționat în condiții septice. Receptivitatea este maximă în rândul persoanelor neimunizate sau imunizate parțial.

Profilaxia tetanosului se bazează pe vaccinare și administrarea de seruri hiperimune. Primovaccinarea sugarilor (6-9 luni vârstă), cu anatoxină tetanică ce intră în componența trivaccinului anti-diftero-tetano-pertussis, este generalizată în România. Pentru obținerea unei imunități solide, de durată, sunt necesare rapeluri, conform schemelor de vaccinare recomandate de producător..

În cazul tetanosului posttraumatic, măsurile de prevenție cuprind: toaleta corectă a plăgii, debridare și excizie, dacă situația clinică o impune, administrarea unei doze de ser antitoxic și vaccinarea dacă persoana respectivă nu a fost imunizată în ultimii 5-10 ani.

Bacili gram-pozitivi sporulați

17.2.4. Clostridiile invazive

Clostridium perfringens este un microorganism ubiquitar. **Habitează** natural solul și face parte din microbiota rezidentă a omului (☞ Subcapitolul 6.2.) și animalelor.

Microscopic apare ca un bacil gram-pozitiv mare, drept, cu capetele rotunjite, imobil.

Bacilii sunt dispuși frecvent izolat dar pot apărea și în perechi sau palisade. (Nu sporulează pe mediile și în condițiile uzuale de incubare (CD 17-12). În frotiuri din prelevate patologice sau în cele din culturi pe medii cu ser sangvin apare capsulat.

Caractere de cultivare. Se dezvoltă foarte bine în limite largi de temperatură: 20-50°C, cu temperatura optimă de creștere la 45°C, condiții în care are timpul de generație de 8 minute. Pe geloză-sânge, coloniile au 1-2 mm diametru și sunt alb-cenușii, opace și, tipic, produc dublă hemoliză: zonă internă, mai îngustă, determinată de toxina β și o zonă externă, mai largă produsă de toxina α (CD 17-14,15). Pe mediu cu gălbenuș de ou cultura este înconjurată de o arie albă de precipitare ce semnifică producerea de lecitinază.

Coagularea și acidifierea laptelui turnesolat cu formare de cheag spongios sunt importante caractere de identificare a *C. perfringens*

Factorii de virulență ai *C. perfringens* sunt reprezentați de 4 toxine majore α , β , ϵ , ι cu efect letal și mai multe toxine minore ce acționează ca proteaze, collagenaze, hemolizine, neuraminidaze, hialuronidaze, dezoxiribonucleaze și o enterotoxină. În funcție de natura toxinelor produse, *C. perfringens* este împărțită în 5 tipuri: A produce α toxina, B produce toxinele majore α , β și ϵ , C sintetizează α și β toxine, tipul D producător de toxine α și ϵ și E produce α și ι toxine.

Toxina α , o fosfolipază (lecitinază) ce hidrolizează fosfatidilcolina și sfingomielină, este responsabilă de pozitivarea testului lipazei și producerea hemolizei pe geloză-sânge. Inocularea la animal are efect letal. **Toxina β** este o toxină letală majoră, responsabilă de enteritele necrotice descrise la populații din Noua Guinee și este labilizată de tripsină. **Toxina ϵ** este o protoxină activată de enzime proteolitice. Crește permeabilitatea mucoasei intestinale, favorizând propria resorbție și acționează sistemic ca toxină letală. Determină hiperemia parenchimului renal, edem pulmonar și creșterea în volum a lichidului pericardic. **Toxina ι** are o structură binară, formată din 2 subunități, ι -a și ι -b, biochimic și imunologic distincte. Toxina are efect dermonecrotic.

Enterotoxina este produsă de *C. perfringens* tip A, C, D multiplicat în carne și derivate. Doza infectantă este de cca 10^8 celule vegetative ingerate. După ingestie forma vegetativă a bacteriei sporulează în colon și secretă enterotoxina care se leagă de receptori ai enterocitelor și apoi întreaga moleculă este integrată în membrană, fără a fi însă internalizată. Perturbă fluxul ionic transmembranar și nivelul calciului intracelular crește considerabil. Rezultă alterarea morfologiei celulare, modificarea permeabilității membranare, pierderea fluidelor celulare și a unor ioni. În plus, toxina acționează ca superantigen ce stimulează limfocitele T.

Patogenitate naturală și patogenie. *Clostridium perfringens* contaminează plăgi posttraumatice sau contaminează apa și alimentele și determină diaree infecțioasă și toxiinfecții alimentare.

Colonizarea clostridială a plăgilor superficiale este abortivă. Plăgile mai profunde favorizează colonizarea și invazia clostridială a țesutului celular subcutanat și a planurilor fasciale legate. Aceste *celulite* și *fasciite* generează toxemie, în general ușoară, și au tendință limitată la invazia țesuturilor sănătoase. De aceea sunt mai ușor de tratat.

Gangrena gazoasă este o infecție polimicrobiană a plăgilor profunde, delabrante, cu perturbarea circulației sangvine și cu necroze tisulare extinse. Aceste condiții favorizează colonizarea clostridiană cu invazia rapidă a țesutului muscular sănătos. Fermentarea

carbohidraților musculari de către clostridii generează gaze care distind țesutul și îi diminuează irigația sangvină accentuând anaerobioza. Leziunile sunt predominant de mionecroză; reacția inflamatorie în mușchiul invadat este în general redusă. Trei specii de clostridii histotoxice sunt recunoscute ca agenți etiologici ai gangrenei gazoase: *C. perfringens*, *C. novyi* (sinonim în literatura franceză *C. oedematiens*) și *C. septicum*. Celelalte specii infectează ocazional plăgile, dar în absența uneia dintre cele trei specii majore nu determină gangrenă gazoasă. Boala debutează la 1-3 zile după traumatism cu semne locale (scurgere fetidă din plagă, edem crepitant în țesutul muscular și subcutanat) și generale (febră, toxemie, hemoliză). În lipsa tratamentului precoce, evoluția spre șoc și moarte este rapidă.

Toxiinfecția alimentară cu *C. perfringens* enterotoxigen debutează, după o perioadă de incubație de 8-24 de ore, cu dureri abdominale, vărsături, scaune diareice. Semnele retrocedează spontan în maximum 2 zile.

Enterotoxina *perfringens* mai este incriminată în producerea *jejunitii necrozante* la persoane cu dietă hipoproteică și, în consecință cu activitate enzimatică intestinală scăzută. Boala se manifestă cu dureri abdominale, vărsături, scaune mucosanguinolente și poate evolua spre perforație intestinală, peritonită, toxemie sau șoc cu prognostic rezervat. Există și forme cu gravitate medie sau ușoară și vindecare spontană.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor produse de *C. perfringens* este direct, bazat pe izolarea bacteriei din prelevate corespunzătoare tipului de infecție, în principal exsudat din plăgi sau fecale. O metodă simplă de a reduce numărul bacteriilor de contaminare este incubarea la 45°C, în atmosferă anaerobă; după 4 ore, din pânza fină apărută în mediul de cultură se repică pe un alt mediu, iar procedeul este repetat de 2-3 ori. Datorită temperaturii crescute și intervalului scurt de incubare, după ultimul pasaj *C. perfringens* va fi obținut în cultură pură. Identificarea biochimică este accesibilă și poate fi completată prin testul de neutralizare a lecitinazei *in vitro*: producerea de lecitinază pe mediul Nagler, este inhibată pe jumătatea de placă inundată cu ser anti- *C. perfringens* (CD 17-16).

Tratamentul chirurgical al plăgii infectate, cu îndepărtarea țesuturilor necrozate și corpurilor străine, condiționează evoluția ulterioară a leziunii. Administrarea oxigenului hiperbaric este utilă. Antibioticoterapia cu penicilină sau metronidazol trebuie inițiată înaintea intervenției chirurgicale și continuată minimum 72 de ore. Eficiența serului antigangrenos este discutabilă.

Prevenirea gangrenei gazoase constă, în principal, în toaleta corectă a plăgilor profunde, anfractuase, murdărite cu pământ sau praf, sub protecție de antibiotice.

17.2.5. *Clostridium difficile*

Habitat. Această bacterie este frecvent găzduită în microbiota colonului (☞ Capitolul 6.2.4.)

Microscopic *Clostridium difficile* este un bacil gram-pozitiv cu mărime variabilă, mobil, cu spor oval, subterminal. Cultivă repede, pe medii uzuale, dar izolarea din fecale presupune inocularea pe agar-manitol-cicloserină, eventual suplimentat cu sânge, sau pe agar cu fructoză, gălbenuș de ou, cefoxitin, cicloserină. Identificarea izolatelor o facem biochimic.

Factorii de virulență sunt: toxina A – enterotoxină și toxina B, cu efect citotoxic. Ambele toxine au efect letal pentru șoarecele alb și alte animale de laborator.

Toxina A are efect enterotoxic pronunțat. Determină, la nivelul ileonului, infiltrat inflamator cu PMN, focare de necroză hemoragică, alterează permeabilitatea celulară și resorbția fluidelor din lumenul intestinal.

Toxina B are efect citotoxic mai pronunțat decât toxina A. Depolimerizează filamentele de actină și afectează citoscheletul, determinând balonizarea celulelor. Nu are

acțiune enterotoxică.

Patogenitate naturală și patogeneză. *Clostridium difficile* a fost izolată ocazional din abcese, infecții ale țesuturilor moi, artrite, osteomielite, dar principala afecțiune determinată este colita pseudomembranoasă post-antibiotice. Boala poate avea caracter de infecție nosocomială și frecvența ei este în creștere în toată lumea. Semnele apar după 5-10 zile de la începerea antibioticoterapiei, mai frecvent cu ampicilină, clindamicină sau cefalosporine și variază ca intensitate de la o diaree de gravitate medie până la pancolită fulminantă, cu perforații intestinale și megacolon. Fecalele pot fi normale macroscopic, dar de cele mai multe ori sunt mucosașugolente. Febra și leucocitoza sunt fenomene constante.

Diagnosticul de laborator se bazează pe detectarea toxinei în filtratul de fecale după inocularea prelevatului în culturi de celule. Majoritatea truselor comerciale imunoenzimactice detectează toxina A. Efectul citopatic este neutralizat de serul antitoxic adăugat în cultură înainte de inocularea filtratului de fecale. Alternativ, toxina poate fi identificată prin tehnici imunenzimactice.

Izolarea *C. difficile*, necesară anchetei epidemiologice, nu este utilă pentru confirmarea diagnosticului.

Tratamentul etiotrop. Antibioticele de elecție în colita pseudomembranoasă sunt metronidazolul și vancomicina.

Epidemiologie. Colonizarea intestinului cu *C. difficile* toxigen poate fi urmarea nerespectării regulilor de igienă individuală. În mediul de spital, endoscopiile digestive cu echipament incorect decontaminat poate favoriza transmiterea tulpinilor toxigene între pacienți.

Prevenirea colitei pseudomembranoase constă în utilizarea rațională a antibioticelor, dezinfectia și sterilizarea echipamentului medical, aplicarea măsurilor de combatere a infecțiilor transmise pe cale fecal-orală.

DANIELA BOSNEA

18.1. PRIVIRE GENERALĂ

Bacteriile anaerobe sunt diferențiate de cele facultative prin incapacitatea lor de a cultiva în prezența oxigenului și prin sensibilitatea la metronidazol. Reprezintă cca 99% din microbiota indigenă și au rolul important de barieră ecologică antiinfecțioasă (Capitolul 6.2.).

Sunt o mare grupare heterogenă, a cărei clasificare corectă și identificare impun utilizarea tehnicilor de biologie moleculară, a metodelor cromatografice și de imunochimie, dar pentru practica medicală curentă este satisfăcătoare împărțirea pe baza criteriilor morfotinctoriale (tabelul 18-1).

Tabelul 18-1 Categoriile microscopice și genuri de anaerobi nesporulați implicați în patologia umană

Bacterii anaerobe gram-pozitive	Bacterii anaerobe gram-negative
• Bacili <i>Propionibacterium</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Actinomyces</i> <i>Eubacterium</i> <i>Mobiluncus</i> • Coci <i>Peptostreptococcus</i> <i>Peptococcus</i> <i>Gemella</i> - Streptococci anaerobi <i>Sarcina</i>	• Bacili <i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Bilophila</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Selenomonas</i> <i>Wolinella</i> • Coci <i>Veillonella</i> • Treponeme

Bacteriile anaerobe nesporulate sunt **foarte pretențioase** atât sub raportul nutrienților, cât și al potențialului de oxidoreducere foarte scăzut necesar creșterii. Unele specii sunt atât

de dependente de factori de creștere pe care și-i furnizează reciproc încât nici nu au putut fi izolate în culturi pure, iar unele spirochete nici nu pot fi cultivate.

Echipamentul de virulență al acestor bacterii este incomplet; nu produc exotoxine. Spre deosebire de alte bacterii oportuniste, **sunt dublu condiționat patogene:** inițiază infecții numai când găsesc condiții anaerobe în țesuturile gazdei sau când pot realiza un anume sinergism cu bacterii aerobe sau facultative.

Infecțiile produse de anaerobi sunt foarte frecvent mixte, prin asocierea mai multor specii anaerobe sau a unui anaerob cu o bacterie facultativă. Mai multe experimente *in vitro* și *in vivo* susțin ipoteza patogeniei prin sinergism microbial și au fost descrise câteva mecanisme care explică acest fenomen:

a) Anaerobii scad capacitatea de apărare antimicrobiană a gazdei și astfel partenerul de infecție își exercită nestingherit virulența; de exemplu, speciile de *Bacteroides* împiedică fagocitarea și omorârea unei game largi de bacterii aerobe de către polimorfonucleare prin competiția (legare sau depleție) pentru opsonine.

b) Furnizarea de nutrienți partenerului de infecție. *Staphylococcus aureus* produce factori de creștere pentru streptococii anaerobi, iar virulența *Prevotella melaninogenica* crește când se asociază cu un difteroid nepatogen care îi furnizează vitamina K1, indispensabilă pentru dezvoltare.

c) Organismele aerobe sau facultative consumă oxigenul din focar și scad potențialul de oxidoreducere, ceea ce creează condiții favorabile înmulțirii anaerobilor.

d) Transferul factorilor de virulență între microorganismele din același focar de infecție. A fost demonstrată convertirea unei tulpini avirulente de *Bacteroides*, normal găzduită în vagin, în tulpină patogenă după expunerea la gonococi. Acest mecanism explică frecvența cu care cervicita gonococică se complică cu salpingită sau infecție pelvină.

e) Mulți dintre bacilii gram-negativi anaerobi sau facultativi produc β -lactamaze la nivele detectabile în fluidul abceselor abdominale; astfel, producătorul de β -lactamază protejează și partenerul de infecție, adesea sensibil la acțiunea antibioticelor β -lactam.

În echipamentul limitat de virulență al bacteriilor anaerobe nesporulate reținem: (1) capacitatea de a adera la suprafața celulelor epiteliale; (2) producerea de enzime; (3) constituienții celulari de suprafață, în special lipopolizaharidul și capsula.

(1) **Adezine.** Multe specii de *Peptostreptococcus* și bacili gram-negativi anaerobi au capsulă, fimbrii și adezine lectin-like prin care aderă direct la suprafețele epiteliale sau indirect, utilizând ca substrat alte bacterii ce au colonizat deja aria respectivă.

(2) **Echipamentul enzimatic semnificativ.** Un grad de aerotoleranță permite anaerobilor patogeni supraviețuirea în țesuturi intens oxigenate. De aceea, produc infecții numai tulpinile capabile să sintetizeze o enzimă similară superoxidismutazei ce îndepărtează din celulă radicalii superoxid (toxici). Alte enzime: elastaze, gelatinaze, collagenaze, lipaze, fibrinolizina, neuraminidaze, Ig-proteaze, promovează invazia țesuturilor și produc inflamație, necroză și supurație.

Tulpini de *Bacteroides*, *Porphyromonas* și *Fusobacterium* produc leucocidină și hemolizine ce inhibă migrarea și imobilizarea leucocitelor în focarul de infecție.

Toți anaerobii produc acizi grași volatili responsabili de inhibarea funcției leucocitelor. Aceste molecule apolare sunt capabile să traverseze membrana citoplasmică a neutrofilelor; ajunse în citoplasmă disociază și scad considerabil pH-ul intracelular, afectând funcționarea enzimelor intracelulare și, în final, determină omorârea bacteriilor.

(3) **Constituienții celulari de suprafață** interacționează cu macrofagele și induc sinteza unui factor procoagulant cu formarea depozitelor de fibrină în focarul infecțios. În plus, capsula protejează bacteria împotriva opsonizării și fagocitării, inhibă migrarea macrofagelor și acționează ca adezină, favorizând colonizarea teritoriului respectiv.

Modul neobișnuit de fosforilare și acilare a lipopolizaharidului speciilor de *Bacteroides*, *Porphyromonas* și *Prevotella* are drept consecință o activitate toxică foarte scăzută sau absentă. Rămâne totuși cu mai multe efecte biologice și anume: activează complementul, stimulează policlonal limfocitele B, activează osteoclastele și macrofagele și stimulează migrarea leucocitelor în focar. Efectele imunologice ale lipopolizaharidului explică modificările patologice caracteristice bolii parodontale.

Fusobacterium spp. au lipopolizaharidul similar celui al enterobacteriaceelor, de unde și efecte similare (☞ Subcapitolul 6.3.1.9.).

Infecțiile determinate de bacteriile anaerobe nesporulate sunt în majoritate **infecții endogene**. Iată de ce este foarte importantă cunoașterea situsurilor colonizate cu un număr mai mare de microorganisme anaerobe, infecția apărând de regulă în vecinătatea acestor zone: cap și gât (inclusiv cavitatea orală și căile respiratorii superioare), tractusul gastrointestinal, tractusul genital feminin.

(1) **Infecții ale căilor aerodigestive superioare, capului și gâtului.** Multe dintre bacteriile anaerobe orale (*Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum*, specii de *Peptostreptococcus*) produc, în general după traumatisme sau pe un anumit teren, boli grave precum: infecții endodontice, granulom periapical, boli parodontale. Netratate, aceste infecții se extind spre teritoriile vecine (cap și gât) sau pot determina, în urma descărcărilor bacteriemice, abcese metastatice la nivelul pulmonului și rinichiului. *Actinomyces israelii*, în eventuală asociere cu alte actinomicete, determină, cel mai frecvent post-traumatic, o supurație cronică a structurilor oro-maxilare: actinomicoza cervico-facială.

Anaerobii care habitează normal în căile respiratorii superioare pot fi implicați în sinuzite acute sau cronice, amigdalite, flegmoane periamigdalene, infecții ale plăgilor postoperatorii sau post-traumatice ale gâtului. În necrobaciloza umană, produsă de *Fusobacterium necrophorum*, necroza amigdalelor induce frecvent diseminarea hematogenă cu localizări metastatice.

Otitele medii sau mastoiditele, de obicei cronice, sunt cele mai importante cauze ale proceselor infecțioase anaerobe ce interesează sistemul nervos central: abcese cerebrale, empiem subdural, abcese epidurale, meningite. Implicați sunt, cel mai adesea, reprezentanți ai genurilor *Bacteroides*, *Porphyromonas* și *Peptostreptococcus micros*.

(2) **Infecții abdominale.** Membrii grupului *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium* și peptostreptococii sunt frecvent izolați din infecții abdominale: apendicită, peritonită, abcese hepatice și splenice, colită cronică ulcerativă precum și din infecții perirectale sau perianale. Actinomicetele din intestin pot determina supurații cronice ale plăgilor postoperatorii, iar *B. fragilis* este adesea izolat din infecții ale căilor biliare la pacienți cu carcinom hepatocelular sau alte obstrucții biliare.

(3) **Infecții pelvine.** Anaerobii din tractusul genital feminin pot ajunge la nivelul uterului, trompelor uterine sau ovarelor ca urmare a traumatismelor, actului chirurgical sau disfuncțiilor organelor genitale. Se pare că fusobacteriile au rol în patogenia nașterii premature.

Ocazional, anaerobii colonizează uretra masculină și, după manevre invazive, exploratorii sau terapeutice, sau obstrucții ale căilor urinare, pot determina: cistite, abcese, celulite periuretrale. Specii de *Bacteroides* și *Fusobacterium* au fost izolate din abcese renale metastatice.

(4) **Infecțiile fusospirochetoze:** stomatita și angina Vincent, noma și ulcerul tropical. În stomatita și angina Vincent leziunile sunt ulceromembranoase cauzate de o asociație de bacili anaerobi gram-negativi și treponeme. Noma, numită și stomatita gangrenoasă, este o afecțiune gangrenoasă a teritoriului oro-facial ce prinde suprafețele mucoase orale și epitelul de tranziție de la nivelul buzelor. Cel mai adesea apare ca o complicație a stomatitei ulceronecrotice, dar poate fi o infecție izolată, mai ales când afectează teritorii precum: canalul auditiv, mucoasa nasală, vulva, prepuțul sau anusul. Netratat, procesul infecțios poate conduce la distrugerea completă a ariei afectate și apoi la moarte. Studii recente sugerează o etiologie polimicrobiană a nomei și anume: *Fusobacterium* spp. + *Porphyromonas asaccharolytica* + spirochete.

Ulcerul tropical este o infecție a copilului mare, mai frecventă la tropice. Este determinată de o asociere microbiană: *Fusobacterium ulcerans* și spirochete.

(5) **Infecțiile exogene** cu bacterii anaerobe sunt mai rare, strâns legate de traumatisme sau intervenții chirurgicale și includ: plăgi mușcate infectate, ulcerul piciorului diabetic, abcese ale țesuturilor moi, celulite și chistul dermoid sacral. Orice specie poate fi implicată, dar *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus* și *Bacteroides fragilis* sunt cel mai frecvent izolați.

(6) **Evoluția bacteriemică.** Indiferent de localizare, infecțiile produse de anaerobi au potențial bacteriemic și pot evolua cu stare septică și procese metastatice la nivelul creierului, pulmonilor, rinichilor, pericardului și endocardului.

Diagnosticul de laborator. Suspicionăm infecția cu bacterii anaerobe nesporulate în următoarele circumstanțe: (i) evoluția în situs care comunică cu suprafețe sau cavități masiv colonizate cu anaerobi; (ii) infecția plăgilor mușcate de om; (iii) pneumonii de aspirație; (iv) evoluția în țesuturi cu vascularizație dezorganizată (e.g., neoplazii, traumatisme); (v) infecții apărute în cursul terapiei cu antibiotice inactivate asupra anaerobilor (aminoglicozide) sau puțin active (e.g., sulfamidele, fluorochinolonele, cu excepția celor din generația a 4-a).

Trebuie respectate câteva exigențe prin care evităm rezultatele fals pozitive sau fals negative, rezultatele tardive (care prin întârziere își pierd relevanța clinică) și costuri nejustificate prin beneficiu terapeutic:

(i) Nu urmărim niciodată izolarea de bacterii anaerobe din prelevate contaminate cu microbiota indigenă (e.g., spută, urină micționată în care abundă asemenea bacterii, dar fără semnificație clinică sau a căror semnificație clinică nu poate fi argumentată). Excepție fac bolile fusospirochetoze (e.g., stomatita Vincent, angina Vincent) în care microscopia este test diagnostic (CD 18-4).

(ii) Prelevatele pe tampon sunt total contraindicate pentru izolarea bacteriilor anaerobe (☞ Subcapitolul 39.3.1.1.B).

(iii) Prelucrăm pentru izolarea bacteriilor anaerobe produse provenite din zone normal sterile: sânge, lichid cefalorahidian, exsudate articulare sau din cavități seroase, probe biopsice, puroiul din abcese cutanate prelevate prin aspirare intraoperatorie sau după decontaminarea riguroasă a tegumentului.

(iv) Imediat după prelevare, probele trebuie introduse într-un mediu de transport reducător sau transportate la laborator într-un recoltor special pentru anaerobi. Probele trebuie înșămânțate imediat pe medii bogate nutritiv, prereduse, proaspăt turnate. Cultura poate apărea după 24-48 ore în cazul fusobacteriilor, *B. fragilis* sau peptostreptococilor, dar *Prevotella*, *Porphyromonas* și *Actinomyces* au creștere lentă și necesită 5-7 zile de incubare anaerobă pentru izolare.

(v) În laboratorul clinic, identificarea anaerobilor se bazează pe caracterele morfotinctoriale și de cultură și pe teste simple cum sunt: sensibilitatea la kanamicină, vancomicină și colistin, toleranța la bilă, pigmentogeneza, fluorescența în radiația ultravioletă.

Această baterie de teste simple permite identificarea preliminară cea mai rapidă a anaerobilor până la nivele cu semnificație pentru decizia terapeutică: e.g., diferențierea *Bacteroides fragilis*, specie intens producătoare de β -lactamaze.

Identificarea cu certitudine a unei specii anaerobe presupune studiul aprofundat al caracterelor biochimice și, mai ales, identificarea produșilor finali de metabolism prin gaz-lichid cromatografie, metode prea costisitoare pentru un laborator obișnuit.

Testarea sensibilității anaerobilor la agenți antimicrobieni este realizată prin metoda diluțiilor (în agar sau bulion) sau prin metode rapide, automate. Ambele sunt scumpe, iar prima și laborioasă și de aceea sunt efectuate numai pentru izolatele din infecții severe (septicemii, endocardite, infecții de proteză, abcese cerebrale) sau când pacientul nu răspunde la terapia instituită empiric.

Mai mult de 50% dintre tulpinile de *Bacteroides* și *Prevotella* produc β -lactamaze, ceea ce explică eșecul tratamentului cu penicilină sau amoxicilină, iar rezistența la clindamicină a devenit semnificativă clinic. Aproximativ 1% dintre peptostreptococi sunt rezistenți la metronidazol. Nu sunt semnalate tulpini rezistente la cefoxitin, amoxicilină + acid clavulanic, cefamandol (cu excepția *B. fragilis*), ticarcilină+acid clavulanic, imipenem.

18.2. BACTERII ANAEROBE NESPORULATE CU INTERES MEDICAL

18.2.1. Cocii gram-pozitivi

Cocii gram-pozitivi anaerobi cuprind genul *Peptostreptococcus* cu numeroase specii și genul *Peptococcus* cu o singură specie: *P. niger*.

Patogenitatea peptostreptococilor este legată, în principal, de sinergismul microbial. Alți factori de virulență ar putea fi:

- capsula, a cărei producere a fost demonstrată pe modele experimentale;
- hialuronidaza, evidențiată la peptostreptococii izolați din boala parodontală;
- enzime proteolitice, în special collagenaze și gelatinaze, ce explică abilitatea *P. micros* și *P. magnus* de a determina infecții supurative (abcese) ale țesuturilor moi;
- proteina L, structură de suprafață prezentă la unele tulpini de *P. magnus*, ce se poate lega de lanțul κ al domeniului variabil al Ig umane, afectându-le funcția.

Marea majoritate a peptostreptococilor și toți ceilalți coci gram-pozitivi anaerobi au rămas sensibili la metronidazol, vancomicină, rifampicină, cloramfenicol, β -lactamine. Rezistența peptostreptococilor la peniciline nu este mediată de producerea de enzime inactivatoare ci, mai probabil, de proteine ce leagă antibioticele β -lactamice.

Ciprofloxacina are activitate redusă asupra cocilor gram-pozitivi anaerobi, dar fluorochinolonele de ultimă generație (e.g., trovafloxacina) au acțiune bactericidă.

Au fost descrise tulpini cu rezistență indusă la macrolide-lincosamide, mai frecvent după tratamentul cu clindamicină.

Peptococcus niger cuprinde coci gram-pozitivi așezați în grămezi. Cultivă lent, în cca 96 ore. Este probabil nepatogen.

18.2.2. Cocii gram-negativi anaerobi formează genul *Veillonella* care are mai multe specii dintre care omul găzduiește câteva în orofaringe și colon. Nu sunt cunoscute ca patogene.

18.2.3. Bacilii gram-pozitivi nesporulați

18.2.3.1. Genul *Actinomyces*. Cele mai multe specii de *Actinomyces* habitează cavitatea orală a omului și animalelor; participă la formarea plăcii dentare și produc adevărate biofilme pe suprafața limbii. *A. israelii* este prezent și în tractusul genital feminin.

Genul cuprinde bacili gram-pozitivi polimorfi. Pe frotiurile din culturi pe geloză-sânge apar difteroizi, chiar cocobacilari. În prelevate, *A. israelii*, *A. bovis*, *A. viscosus*, *A. naeslundii* apar ca filamente ramificate, unele cu tendință la fragmentare (CD 18-1).

Majoritatea speciilor sunt facultativ anaerobe, dar cresc mai bine în anaerobioză și în prezența CO₂. Sunt microorganisme pretențioase nutritiv, cu creștere lentă. Pe medii îmbogățite cu sânge sau ser cultivă în 3-4 zile și aspectul coloniilor variază foarte mult cu specia considerată.

În patologia umană sunt implicate cel mai frecvent: *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. odontolyticus* și adesea sunt izolate 2 specii din aceeași leziune actinomicotică. Cea mai frecventă localizare a infecției este în regiunea cervico-facială, dar este posibilă afectarea oricărui alt situs. Leziunea este un abces delimitat prin țesut de granulație și fibros.

Bacteriile anaerobe nesporulate

Clinic, pacienții prezintă tumefiere locală de consistență lemnoasă, relativ nedureroasă și fără adenită. Ulterior apar puncte fluctuente drenate prin una sau mai multe fistule din care se scurge puroi fluid, eventual cu grunji galbeni de 0,2-1mm diametru, numiți „granule de sulf”, de fapt colonii tisulare ale actinomicetului infectant (CD 18-2). Leziunea se extinde din aproape în aproape în țesuturile și organele vecine.

Actinomicetele sunt sensibile la antibioticele β -lactam, tetraciclone, cloramfenicol, macrolide, acid fusidic, vancomicină. Cu excepția *A. pyogenes*, toate speciile sunt rezistente la aminoglicozide.

18.2.3.2. Genul *Propionibacterium*. *Propionibacterium acnes* ș.a colonizează glandele sebacee. Rar au fost implicați în infecții bacteriemice cu localizări metastatice. Sunt implicați în infecții tegumentare mixte (e.g., acnee juvenilă).

Propionibacterium propionicum este găzduit în orofaringe și poate determina infecții ale aparatului lacrimal și ochiului.

18.2.3.3. Genul *Mobiluncus*. Include bacili subțiri, sub formă încurbată, gram-negativi dar cu structura peretelui de tip gram-pozitiv (sensibil la vancomicină). Prezența lor în flora vaginală este marker de vaginoză.

18.2.3.4. Genul *Bifidobacterium*. Dintre numeroasele specii de *Bifidobacterium*, 10 au habitat uman. Sunt considerate nepatogene pentru om și, mai mult, au efect protector împotriva infecțiilor digestive și cancerului de colon și sunt incluse în gama produselor probiotice.

18.2.3.5. Genul *Eubacterium*. Reprezentanți ai genului *Eubacterium*, mai frecvent *E. lentum* și *E. limosum*, sunt izolați din infecții supurative, deseori mixte, cu variate localizări.

18.2.3.6. Genul *Lactobacillus*. Lactobacilii prezintă interes dublu: implicarea în unele infecții și efectul probiotic al unor specii.

Efectul probiotic al lactobacililor este demonstrat de Mecinikov încă din 1901. Studii recente arată că lactobacilii administrați per os la pacienți cu infecții intestinale cresc capacitatea de răspuns imun a mucoasei și favorizează vindecarea.

Speciile de *Lactobacillus* cu habitat oral sunt implicate în cariogeneză. Mai mulți reprezentanți ai genului au fost izolați din bacteriemii cu variate porți de intrare.

18.2.4. Bacilii gram-negativi anaerobi

18.2.4.1. Genul *Bacteroides*. Cuprinde bacili gram-negativi, polimorfi, imobili. Cresc bine pe geloză-sânge, la 37°C, în atmosferă strict anaerobă. Formează colonii rotunde, convexe, de 1-3 mm diametru, cu contur net, suprafața netedă, lucioasă. Unele specii produc o hemoliză discretă și foarte puține sunt β -hemolitice. Creșterea este stimulată de bilă, tolerează taurocholatul de sodiu, dar sunt inhibitate de dezoxicholat.

Bacteroides fragilis reprezintă mai puțin de 10% din totalul speciilor de *Bacteroides* ce habitează normal intestinul, dar este bacteria cel mai frecvent izolată din infecții abdominale. Conține un lipopolizaharid cu activitate endotoxică slabă, a cărui porțiune polizaharidică conferă specificitate antigenică de tip. Distal se găsește o capsulă polizaharidică groasă compusă din molecule cu greutate moleculară mare care protejează celula atât de acțiunea litică a complementului, cât și de fagocitoză. La virulența bacteriei mai contribuie o serie de enzime eliberate extracelular sau asociate membranei: proteinaze, collagenaze, fibrinolizina, hemolizina, neuraminidază, fosfataze, ADN-aze, hialuronidaze, heparinaze, condroitinsulfataza.

Bacteroides fragilis este mare producător de β -lactamaze și de aceea amoxicilina și cefalosporinele nu sunt antibioticele de elecție în tratamentul infecțiilor determinate de aceste microorganisme.

Bacteroides thetaiotaomicron. Din cauza polimorfismului numele acestei specii este o combinație a literelor grecești theta, iota și omicron a căror formă o sugerează. Habitează obișnuit colonul și este a doua specie ca frecvență a izolării din variate produse patologice. Are potențial patogen și prezența sa are, cel mai adesea, semnificație clinică.

18.2.4.2. Genul *Prevotella* cuprinde bacili gram-negativi, polimorfi, imobili. Este strict anaerob, cu creștere optimă la 37°C, deși majoritatea speciilor cultivă în limite largi de temperatură (25-45°C). Au nevoie de hemină și menadionă și sunt inhibitate de NaCl în concentrație de 6,5%, bilă și săruri biliare.

Pe geloză-sânge, *Prevotella* cultivă în 3-5 zile și formează colonii de 1-2 mm în diametru, rotunde, convexe, inițial translucide, apoi opace, cenușii, maro și negre, funcție de vârsta culturii. Unele tulpini sunt hemolitice.

Cele mai multe specii sunt sensibile la benzilpenicilină și amoxicilină, dar unele tulpini pot apărea rezistente prin producerea de β-lactamaze. Macrolidele și metronidazolul au activitate bună asupra acestor bacterii.

Prevotella melaninogenica habitează normal crevasele gingivale și vaginul și este implicată în infecții endogene cu punct de plecare aceste arii. Cultivă relativ repede: după 48 ore formează colonii de cca 1 mm, opace, cenușii ce devin în 2-3 zile negre, pigmentarea pornind din centrul coloniei (CD 18-3).

Prevotella intermedia și *Prevotella nigrescens* habitează colonul și cavitatea orală a omului și altor mamifere. Formează colonii pigmentate în negru, unele strălucitoare și netede, altele dure, uscate, rugoase. Cele mai multe tulpini sunt β-hemolitice. Sunt izolate din leziuni orale cu caracter distructiv și participă la inițierea și progresia parodontitelor marginale cronice.

Alte specii de *Prevotella* sunt de asemenea implicate în infecții mixte ale cavității orale.

18.2.4.3. Genul *Porphyromonas* include cocobacili sau bacili gram-negativi fini, nesporulați, imobili. Sunt bacterii strict anaerobe, pretențioase nutritiv, cu creștere lentă. După 5-7 zile de incubare la 37°C formează colonii mici, S, ce se înnegresc progresiv dinspre margini spre centru.

Microorganismele din genul *Porphyromonas* sunt sensibile la amoxicilină, clindamicină, macrolide, fluorochinolone, metronidazol.

Porphyromonas asaccharolytica habitează normal colonul, dar în cantitate mult mai mică decât *Bacteroides*. Este prezentă și în microbiota vaginului și implicată în infecții mixte conectate tractusului intestinal inferior, infecții gangrenoase sau ulcere ale piciorului diabetic.

Porphyromonas catoniae habitează normal crevasele gingivale și poate fi implicată în producerea bolii parodontale.

Porphyromonas endodontalis este frecvent izolată din placa dentară subgingivală și determină abcese periapicale severe, cu caracter distructiv.

18.2.4.3. Genul *Fusobacterium* cuprinde bacili gram-negativi cu morfologie variată: cocobacili, bacili cu capete efilate, filamente, așezați izolat sau în perechi. Uneori sunt granulari și au aspect de mătânii. Unele tulpini prezintă formațiuni globulare situate central, subterminal sau terminal. Sunt strict anaerobi, cu creștere optimă la 37°C și pH neutru. Pe geloză-sânge cu adaos de peptone și tripticază formează, după 24-48 ore, colonii de 1-2 mm, acuminate, cu suprafața netedă, albe, crem sau cenușii, nehemolitice. Cultura degajă un miros neplăcut, dar nu fetid. În medii semisolide sau lichide produc gaz.

Fusobacterium nucleatum, *F. periodonticum*, *F. alocis* habitează natural cavitatea orală a omului și participă la formarea plăcii dentare. Izolarea frecventă a *F. necrophorum* din infecții ale țesuturilor moi periorale sugerează că și pentru această specie habitatul natural ar putea fi cavitatea bucală.

Fusobacterium gonidioformans și *F. naviforme* sunt constant prezente în microbiota vaginului, iar numeroase alte specii și subspecii habitează tractusul intestinal.

Fusobacteriile sunt izolate din infecții cu caracter ulcerativ și necrotic. *Fusobacterium nucleatum* este, alături de patogenii genurilor *Bacteroides* și *Prevotella*, bacilul gram-negativ cel mai frecvent implicat în patologia umană. Este izolat din parodontite acute și cronice, abcese cerebrale și hepatice, infecții ale țesuturilor moi faciale și din zona gâtului.

Fusobacterium necrophorum determină necrobaciloza umană și infecții în sfera aparatului genital.

Între 30% și 40% dintre fusobacteriile izolate în SUA și Europa Centrală sunt rezistente la antibioticele β-lactamice prin producere de β-lactamaze. Rezistența la tetraciclină, semnificativă clinic, este de tip cromosomal. Toate speciile sunt sensibile la clindamicină, carbapeneme și metronidazol.

OLIVIA DORNEANU

„Nu trebuie să ignorăm faptul că lupta împotriva tuberculozei necesită resurse financiare considerabile. Cu cât afectăm mai multe paturi pentru bolnavii contagioși, în sanatorii bine echipate și organizate, cu atât protejăm mai eficient familiile acestor bolnavi și împiedicăm răspândirea microbilor în afara spitalului. Înființarea mai multor centre de protecție socială va conduce rapid la scăderea importanței tuberculozei ca boală infecțioasă de largă răspândire.”

ROBERT KOCH, 1905 Discurs la acceptarea Premiului Nobel

Prima micobacterie cunoscută, bacilul tuberculozei, a fost descoperită de R. Koch în 1882. De aceea *Mycobacterium tuberculosis* este numit comun și bacilul lui Koch. Numele genului vine de la unele asemănări morfologice cu fungii microscopici filamentoși: gr. *myces* un fung, gr. *bakterion* un baston mic; referire la tendința de creștere ramificată a micobacteriilor, care nu formează însă micelii pentru că formele ramificate se fragmentează ușor în elemente bacilare cu dispoziție unghiulară sau cocoide.

Minidefiniție. Genul *Mycobacterium* reunește bacili tipic acido-alcoolo-rezistenți (**baar**), imobili, necapsulați, nesporulați, uneori ramificați. Aerobi sau microaerofili, degradează zaharurile oxidativ. Cultivă lent, foarte lent sau sunt necultivabili *in vitro*.

Conținutul mare în lipide și ceruri al peretelui celular (☞ Subcapitolul 2.2.2.3.) conferă micobacteriilor următoarele particularități de reținut:

(i) Acido-alcoolo-rezistența pe care se bazează principiul colorațiilor pentru microscopia acestor bacterii.

(ii) Rezistența la tratamentul cu alcali, care permite decontaminarea chimică a prelevatelor contaminate din care urmărim să izolăm micobacterii.

(iii) Rezistența relativă la antiseptice și dezinfectante, care obligă la utilizarea dezinfectantelor cu nivel cel puțin mijlociu de eficiență.

(iv) Sensibilitatea la o gamă restrânsă de antibiotice și chimioterapice.

(v) Supraviețuirea și multiplicarea în fagolizosomi, care conferă micobacteriilor patogene și condiționat patogene caracterul de bacterii facultativ intracelulare și capacitatea de a determina infecții latente.

(vi) Caracterul cronic și granulomatos al infecțiilor.

Micobacteriile cultivă numai pe medii complexe, mai repede în mediile lichide decât pe cele solide. În România utilizăm curent mediul Löwenstein-Jensen (L-J), un mediu pe bază de ou, coagulat în pantă pe baie de nisip. Mediile Middlebrook condiționate în plăci ca geloză permit depistarea cea mai ușoară a coloniilor minuscule, iar condiționate ca bulion permit efectuarea unor teste biochimice de identificare. Creșterea micobacteriilor este lentă (între 7 și 28 zile) sau foarte lentă (între 28 și 96 zile); puține specii au creștere rapidă (sub 7 zile). *Mycobacterium leprae* nu cultivă *in vitro*. Incubarea în atmosferă cu 5-10% CO₂ crește sensibilitatea izolării micobacteriilor.

Identificarea preliminară a micobacteriilor o facem pe baza caracterelor microscopice, a caracterelor de cultivare și a producerii de catalază. Pentru diferențierea speciilor folosim baterii de teste biochimice.

O identificare mai rapidă și mai precisă permit analiza cromatografică a acizilor grași din peretele bacterian, sondele de acizi nucleici și reacția de amplificare genică (identificare cu sensibilitate maximă direct în produse patologice).

Pentru studiu putem clasifica numeroasele specii de *Mycobacterium* după criteriul patogenității pentru om și al caracterelor de cultivare în trei categorii:

(i) Bacilii tuberculozei, patogeni, ale căror caractere de cultivare au fost considerate „tipice”.

(ii) Micobacteriile atipice, cu caractere de cultivare diferite de cele ale bacililor tuberculozei (viteza creșterii, pigmentogeneză). Unele micobacterii atipice sunt condiționate patogene pentru om (posibil patogene pentru o serie de animale), altele sunt saprofite nepatogene.

(iii) *Mycobacterium leprae*.

19.1. BACILII TUBERCULOZEI

19.1.1. *Mycobacterium tuberculosis*

(1) **Habitat.** *Mycobacterium tuberculosis*, sau bacilul lui Koch, este un patogen specific al omului, dar poate infecta și animale de agrement din anturajul apropiat (câini, pisici, papagali, maimuțe).

(2) **Caracterele microscopice** sunt cele ale genului (CD 19-1). Particular, în culturile tulpinilor virulente, bacilii tuberculozei se dispun paralel și formează corzi flexuoase. Dispoziția în corzi este test prezumtiv de identificare a bacililor tuberculozei (CD 19-2).

(3) **Caractere de cultivare.** Pe mediul L-J cu glicerol sau piruvat *M. tuberculosis* crește eugonic (creștere optimă, abundentă). Primocultura apare după 2-4 săptămâni, iar subculturile după 1-2 săptămâni. Coloniile sunt conopidiforme, rugoase, uscate, de culoare crem-bej (CD 19-3).

(4) **Rezistența la factorii de mediu.** Bacilii tuberculozei sunt relativ rezistenți în mediul extern. În produse patologice uscate supraviețuiesc până la un an la întuneric și câteva luni la lumină difuză; radiația solară directă îi omoară în 24-30 ore. În lapte mor după 30 minute la 70°C și după 5 minute la 100°C. Dintre dezinfectante, mai active sunt fenolul 2% și lizolul, care omoară bacilii tuberculozei în suspensii din culturi în interval de o oră. În schimb, asupra bacililor din spută sunt eficiente după 24 ore de contact.

În NaOH 4% mulți bacili supraviețuiesc minim 15-30 minute, interval în care bacteriile neacidorezistente sunt omorâte. Pe această proprietate se bazează decontaminarea chimică a prelevatelor patologice în vederea izolării bacililor tuberculozei.

(5) **Structura antigenică** este complexă:

(i) *Tuberculolipidele* – acizi micolici (β -hidroxiacizi grași cu catenă lungă, ramificată), ceruri și alcooli superiori – reprezintă până la 60% din greutatea uscată a acestor bacili, persistă timp îndelungat în țesuturi și imprimă caractere particulare reacției inflamatorii. Astfel, sub acțiunea fosfatidilcolinei, macrofagele se metaplaziază în celule epitelioidale, iar sub acțiunea acizilor micolici în celule gigante multinucleate (celule Langhans), caracteristice granulomului tuberculos. Un sulfolipid propriu bacililor virulenți, „cord-factor”, induce cultivarea acestora sub formă de corzi.

(ii) *Polizaharidele* au rol important în formarea de anticorpi circulanți și conferă specificitatea imunologică.

(iii) *Tuberculoproteinele* purificate inoculate la un animal indemn de infecția tuberculoasă induc numai sensibilizare de tip anafilactic, dar în complexul natural cu

tuberculolipide induc răspuns imun predominant celular, care explică abundența limfocitelor în granulomul tuberculos.

Între *M. tuberculosis* și ceilalți bacili ai tuberculozei există înrudiri antigenice (☞ Subcapitolul 19.1.2.). Înrudiri antigenice au și cu *M. leprae*.

(6) Factori de virulență. *Mycobacterium tuberculosis* este o bacterie facultativ intracelulară (se poate dezvolta în macrofagele alveolare native).

- Cord-factorul, prezent pe suprafața externă a *M. tuberculosis*, inhibă migrarea polimorfonuclearelor și induce formarea granulomului. Când este eliberat intracelular produce lezarea mitocondriilor.

- Sulfatidele, glicolipide localizate pe suprafața micobacteriilor, inhibă formarea fagolizosomului, permițând supraviețuirea bacteriei ingerată de către macrofage.

(7) Patogenitate naturală și patogenie

Poarta de intrare a infecției poate fi variată, respiratorie în peste 90% din cazuri. Infecția apare după inhalarea picăturilor Flügge, nucleilor de picături ori pulberilor contaminate. Bacilii penetrează în macrofagele alveolare native și se multiplică în fagosomi. Fagocitele infectate pot fi distruse, urmând alte cicluri de fagocitoză, multiplicare a micobacteriilor și liză celulară. Macrofage și limfocite circulante sunt atrase la locul infecției. Caracteristica histopatologică a acestui focar inflamator este metaplazierea macrofagelor în celule multinucleate Langhans și celule epitelioid. Macrofage infectate se pot răspândi la nivelul ganglionilor limfatici regionali, în circulația sanguină și alte țesuturi. Modificările histopatologice din infecția micobacteriană se datorează mai mult răspunsului imun al gazdei la infecție decât acțiunii factorilor de virulență specifici ai micobacteriilor.

(i) Infecția primară

Primoinfecția tuberculoasă debutează cu o *inflamație nespecifică*: în alveole se acumulează exsudat fibrinos, leucocite polimorfonucleare și **baar**. Odată cu răspunsul imun celular, leziunea tuberculoasă exsudativă evoluează în *leziune inflamatorie specifică, granulomatoasă*. Granulomul tuberculos are trei zone distincte: centrală cu celule gigante multinucleate, mijlocie cu celule epitelioid și periferică dominată de limfocite. Extensia infecției pe cale limfatică realizează „complexul primar” caracterizat prin leziunea de la poarta de intrare sau șancrul de inoculare, limfangită și adenită satelită. În raport cu poarta de intrare a infecției este și localizarea complexului primar: alveole pulmonare – ganglioni mediastinali când contagiuul a fost aerogen, plăci Peyer – ganglioni mezenterici în cazul porții de intrare digestive ș.a.

Funcție de receptivitatea gazdei, de virulența bacililor și doza infectantă primoinfecția tuberculoasă poate evolua inaparent, subclinic, manifest cu sau fără complicații.

- *Primoinfecția tuberculoasă inaparentă*. În zonele cu nivel socio-economic ridicat și endemie medie sau scăzută a tuberculozei, cca 85% din primoinfecțiile tuberculoase evoluează inaparent spre cicatrizarea leziunilor și infecție latentă.

- *Tuberculoza primară subclinică*. Când multiplicarea bacililor este mai importantă și leziunile au volum mai mare, necroza de *cazeificare* determină apariția unui *tuberculom*. Condițiile din țesutul cazeificat sunt neprielnice multiplicării bacililor (anoxie, eliberare de constituenți celulari bactericizi). Ca atare, de cele mai multe ori, tuberculomul se încapsulează, se calcifică, iar infecția evoluează în continuare latent. Forma subclinică a primoinfecției tuberculoase poate fi depistată radiologic.

Multiplicarea bacililor în leziunile primare este importantă după contagiu masiv sau în infecțiile la gazde cu reactivitate deficitară (copii cu vârsta sub 6 ani, pubertarii, convalescenții după boli anergizante, gravide). Primoinfecția tuberculoasă în aceste cazuri are expresie clinică și radiologică și evoluează ca primoinfecție manifestă necomplicată sau cu

complicații.

- **Primoinfecția manifestă necomplicată.** Simptomatologia include febră, astenie, transpirații nocturne, pierdere în greutate ș.a. Semnele radiologice sunt mai importante. Infecția depășește etapa ganglionară cu diseminări discrete hematogene în mica circulație apoi în marea circulație. Toate seroasele și țesuturile pot fi afectate. Leziunile evoluează spre agravare sau spre cicatrizare funcție de reactivitatea gazdei.

- **Primoinfecția complicată.** Uneori bacilii din leziunile complexului primar se propagă pe cale limfatică retrogradă spre pleură. Alteori masa de cazeum se ramolește și leziunile pot perfora în bronhii, vasele sanguine, pleură sau pericard. Perforarea în bronhii diseminează infecția în pulmoni. Perforarea într-un vas sanguin diseminează infecția sistemic cu apariția a nenumărate metastaze septice: tuberculoza miliară sau granulia tuberculoasă cu evoluție mortală.

Consecințele primoinfecției tuberculoase sunt: sensibilizarea de tip întârziat la tuberculină și o imunitate relativă antituberculoasă (☞ mai jos).

(ii) **Infecția tuberculoasă latentă.** Cicatrizarea leziunilor primoinfecției nu coincide necesar cu vindecarea microbiologică. Macrofagele din focarele cicatrizate continuă să adăpostească bacili dormanți – infecția devine latentă.

(iii) **Tuberculoza secundară.** Reinfectii masive sau reactivarea unor focare latente („reinfectie endogenă”) în condițiile unui deficit imun duc la tuberculoza secundară. Spre deosebire de leziunile primare, cele secundare nu se însoțesc de adenită, focarele apar în ritm lent și evoluează cronic fără vindecare spontană. Riscul reactivării focarelor de infecție latentă este mare la pacienții care au făcut primoinfecții subclinice sau manifeste clinic.

(8) **Imunitate și sensibilizare.** Imunitatea antituberculoasă este o imunitate de infecție, mediată celular, care dispare odată cu vindecarea microbiologică. Eficiența ei este dependentă de capacitățile funcționale ale macrofagelor, care pot prezenta largi variații individuale. Este o imunitate relativă, care întârzie multiplicarea bacililor, reduce diseminarea limfatică și crește capacitatea organismului de a delimita leziunile, dar nu este suficientă pentru vindecarea leziunilor în tuberculoza secundară.

Sensibilizarea tuberculinică este un corolar al imunității. Cele două fenomene pot fi disociate: sensibilizarea tuberculinică apare și după inocularea cobailor cu tuberculoproteina complexată cu fracțiunea ceroasă fără a fi însoțită de imunitate, iar desensibilizarea tuberculinică nu afectează imunitatea antituberculoasă.

(9) **Diagnosticul de laborator.** Diagnosticul poate fi sugerat de semnele radiografice, dar confirmarea necesită izolarea *M. tuberculosis*. În funcție de localizarea semnelor clinice examinăm: spută, spălătură bronșică, exsudat pleural, articular, lichid cefalorahidian (LCR), urină, probe biopsice, puroi ș.a. Prelevări repetate cresc sensibilitatea diagnosticului (e.g., prelevarea a trei probe matinale consecutive de spută, de urină).

Detectarea bacililor tuberculozei este ameliorată dacă produsele patologice paucibacilare sunt concentrate prin centrifugare (urină, LCR ș.a.). În vederea concentrării, prelevate vâscoase (ca sputa) sunt în prealabil omogenizate. În general, metodele de omogenizare realizează și decontaminarea probelor, de exemplu, tratarea cu NaOH 4%.

Baciloscoopia se face cu obiectiv 90X pe frotiu colorat Ziehl-Neelsen; depistează **baar** fără indicații referitoare la specie. Un rezultat pozitiv are valoare diagnostică în cazul prelevatelor necontaminate sau sputei, dar este numai orientativ pentru prelevate în care micobacterii saprofite de contaminare ating cantități decelabile microscopic, ca urina (contaminată cu *M. smegmatis*, *M. phley*), spălătură gastrică (contaminată cu *M. gastris*), fecale. Depistează mai rapid (1-2 ore) bacilii tuberculozei în comparație cu metodele de izolare (4-8 săptămâni). Depistează și **baar** care nu cultivă în condițiile oferite. Un rezultat negativ trebuie să se bazeze pe examenul a cel puțin 100 de câmpuri microscopice.

Baciloscopia negativă nu exclude diagnosticul de tuberculoză, dată fiind sensibilitatea relativ redusă a microscopiei.

Izolarea este indispensabilă diagnosticului de certitudine al tuberculozei. Prelevatele contaminate sunt însămânțate numai după decontaminare. O decontaminare drastică, cum se impune, de exemplu, pentru prelevate hipercontaminate, reduce sensibilitatea izolării. De aceea este indicată reducerea contaminării încă din momentul prelevării și prevenirea multiplicării contaminanților până în momentul examinării.

Mediul Löwenstein-Jensen este cel mai bun mediu de cultură pentru izolarea *M. tuberculosis*. Culturile incubate la 37°C, sunt urmărite săptămânal timp de 2-3 luni (Subcapitolul 19.1.2). Identificarea izolatelor este făcută prin caracterele microscopice, de cultivare și biochimice. Un rezultat negativ al culturii nu exclude diagnosticul de tuberculoză (leziuni închise sau care elimină intermitent cantități mici de bacili). În aceste cazuri, examene repetate cresc sensibilitatea metodei.

Intradermoreacția (i.d.r.) la tuberculină depistează sensibilizarea de tip întârziat și imunitatea față de *M. tuberculosis*. Folosim preparate purificate numite **PPD** (*Purified Protein Derivative*). În România folosim PPD-IC65 livrat în 2 concentrații diferite: 2 unități de tuberculină (UT)/0,1 mL și 10 UT/0,1 mL.

Intensitatea sensibilizării la tuberculină este proporțională cu cantitatea de bacili acumulată în focarul infecțios, de aceea, în raport cu endemia tuberculozei în România, i.d.r. se face inițial cu 2 UT. Rezultatele sunt citite la 48-72 ore după injectare. La locul reacției apare o zonă eritematoasă, circulară, centrată de edem infiltrativ indurat. O zonă indurată, proeminentă cu diametrul peste 9 mm este considerată reacție pozitivă. Persoanele cu reacție negativă la 2 UT sunt retestate cu 10 UT într-un interval care nu trebuie să depășească 15 zile pentru a evita reacții violente datorate infecției tuberculoase survenite între timp.

Interpretare. O reacție pozitivă nu înseamnă obligatoriu că pacientul are tuberculoză, ci doar că a făcut primoinfecția tuberculoasă. Vaccinarea eficientă poate fi, de asemenea, cauza unui rezultat pozitiv. Tuberculoza sau evoluția virtual nefavorabilă a primoinfecției sunt posibile în următoarele 3 situații:

- Reacție pozitivă foarte intensă la 2 UT (flictenă, necroză);
- Virajul reacției de la negativ la pozitiv la copii nevaccinați BCG, din focare de tuberculoză;
- Saltul tuberculinic (creșterea diametrului reacției cu peste 8 mm între 2 testări). Pentru surprinderea saltului tuberculinic testăm în dinamică, la intervale de 6 luni, persoane din focare de tuberculoză (testări repetate la intervale de 1-2 luni duc la desensibilizare).

Reacții fals-pozitive pot apărea ca rezultat al reacției încrucișate cu alte micobacterii. Reacții fals-negative apar în circumstanțe de imunodepresie celulară.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Datorită actualei prevalențe crescute a tulpinilor rezistente, este esențială testarea sensibilității izolatelor la antibioticele antituberculoase.

Antituberculoasele de primă linie sunt: izoniazida (HIN), rifampicina, etambutol, pirazinamida, streptomycină. Antituberculoase de a doua linie sunt: cicloserina, etionamida, fluorochinolone, capreomicina, kanamicina, acidul para-aminosalicilic (PAS), rifabutin, viomicina.

Pentru a preveni selectarea și răspândirea rapidă a tulpinilor rezistente de *M. tuberculosis*, în special printre pacienți HIV-infecțiați și contactii lor, Centrul de Control al Bolilor (CDC, Atlanta) recomandă asocierea a 4 medicamente în inițierea terapiei antituberculoase.

Tratamentul durează 6-12 luni, funcție de gravitatea bolii. Complanța pacientului este esențială pentru a minimaliza emergența tulpinilor rezistente.

(11) Epidemiologie. *Rezervor de infecție* pentru *M. tuberculosis* sunt bolnavi cu leziuni deschise. Boala nu este foarte contagioasă și este *transmisă* aerogen, prin inhalarea de picături Flügge ori pulberi contaminate. Căi de transmitere implicate mai rar: contact direct cu leziuni deschise. *Receptivitatea* la infecția tuberculoasă este generală și evident influențată de vârstă (copii 0-6 ani, pubertarii, vârstnicii sunt cei mai receptivi), factorii de mediu (infecții anergizante, carențe nutritive, alcoolism, diabet, silicoză, tratament imunosupresiv măresc receptivitatea) și starea fiziologică (sarcină).

Incidența tuberculozei în România continuă tendința de creștere apărută după 1985, atingând valori de peste 130‰. Mortalitatea prin tuberculoză (11‰) ne plasează pe primul loc în Europa.

(12) Profilaxia o facem prin măsuri nespecifice și specifice.

Măsuri nespecifice: depistarea activă și precoce a surselor de infecție (depistare radiofotografică, bacteriologică); izolarea, tratarea și educația sanitară a pacienților; dezinfecția în focarul de tuberculoză.

Măsuri specifice: vaccinarea antituberculoasă și chimioprofilaxia.

• *Vaccinarea antituberculoasă.* Vaccinul atenuat BCG (*bacille Calmette-Guerin*, o tulpină avirulentă de *M. bovis*) este administrat intradermic nou-născuților începând din a 4-a zi de viață (fără testare tuberculinică). Vaccinarea BCG induce infecție subclinică imunizantă, ca și primoinfecția naturală, dar fără pericolele legate de evoluția imprevizibilă a acesteia. Revaccinările sunt selective la persoane cu i.d.r. la tuberculină negativă. Vaccinarea BCG, corect practică, poate reduce cu 8% frecvența globală a tuberculozei.

• *Chimioprofilaxia* o realizăm prin administrare de HIN, timp de un an, nou-născuților din mame tuberculoase, contacților tuberculino-negativi din focare de tuberculoză, copiilor la care s-a surprins virajul tuberculinic neexplicat prin vaccinare BCG. Scopul ei este de a preveni primoinfecția tuberculoasă cu tulpini virulente a cărei evoluție este imprevizibilă.

19.1.2. Complexul *Mycobacterium bovis*

Complexul *M. bovis* reunește speciile *M. bovis*, *M. africanum* și bacilul lui Calmette și Guérin.

Mycobacterium bovis este agentul tuberculozei bovine, dar determină ocazional tuberculoză și la om după consum de lapte de vacă crud (animale cu mamită tuberculoasă) sau inhalare de aerosoli eliminați de vitele cu tuberculoză pulmonară.

Creșterea pe mediul L-J este disgonică (creștere săracă), lentă sau foarte lentă, sub formă de colonii foarte mici, S, nepigmentate.

Mycobacterium africanum este o specie umană, cu circulație în Africa de Vest și Centrală. Are caractere intermediare între *M. tuberculosis* și *M. bovis*. Pe mediul L-J crește lent, disgonic, formând colonii plate, rugoase.

Bacilul lui Calmette și Guérin (BCG) este o tulpină de *M. bovis* cu virulență atenuată obținută de cei doi autori după subcultivări pe mediu cu cartof glicerinat timp de 13 ani. Pe mediul L-J creșterea este eugonică cu colonii rugoase.

Mycobacterium bovis și *M. africanum* determină la om o tuberculoză clinic indistinctă de cea cauzată de *M. tuberculosis*. Pentru persoane normoreactive BCG este avirulent și imunizează încrucișat față de toți bacilii tuberculozei și *M. leprae*; rar este implicat în infecții post-vaccinale manifeste clinic la copii cu imunodeficiență celulară.

Sensibilitatea la chimioterapice a complexului *M. bovis* este asemănătoare cu cea a *M. tuberculosis*, dar *M. bovis* este rezistent la pirazinamidă.

Câteva particularități profilactice are numai infecția cu *M. bovis*: pasteurizarea laptelui, sacrificarea vitelor reactive la tuberculină.

19.2. MICOBACTERIILE ATIPICE

Micobacteriile zise „atipice” sunt specii cu caractere de cultivare, habitat, patogenitate și sensibilitate la antibiotice diferite de ale bacililor tuberculozei.

După principalele caractere de cultivare, micobacteriile atipice sunt împărțite în patru grupuri: Grupul I fotocromogen – cultura produce pigment numai după expunere la lumină (CD 19-4) –, Grupul II scotocromogen – cultura produce pigment și când este incubată la întuneric (CD 19-5) –, Grupul III noncromogen – culturi nepigmentogene – și Grupul IV cu creștere rapidă sub 7 zile de incubație (CD 19-6). Tabelul 19-1 rezumă caracterele de cultivare, rezervorul de infecție, patogenitatea micobacteriilor atipice și antibioticele indicate pentru terapia infecțiilor.

O serie de specii sunt condiționat patogene pentru om, dar pentru animale unele pot fi natural patogene (e.g., *M. avium* cauză a tuberculozei aviare). O altă serie sunt saprofite ale ambientului cu patogenitate necunoscută (tabelul 19-1).

La persoane imunoreactive determină infecții localizate (e.g., pulmonare, ganglionare, cutanate) și infecții latente. La gazde imunocompromise, în speță la pacienții cu SIDA, micobacteriile atipice sunt responsabile de infecții generalizate grave.

Pentru depistarea micobacteriilor atipice în prelevatele patologice recurgem la aceleași metode ca pentru diagnosticul tuberculozei. În infecțiile sistemice (e.g., cu *M. avium-intracellulare*) examinăm hemoculturi, exsudate seroase, probe tisulare.

Micobacteriile atipice depistate în prelevate patologice au semnificație clinică numai când, în lipsa bacililor tuberculozei, aceeași specie este izolată repetat și în concentrații mari.

19.3. MYCOBACTERIUM LEPRAE

Mycobacterium leprae este agentul etiologic al leprei (boala Hansen), o boală a omului.

În frotiuri din produse patologice, *M. leprae* apare ca un **baar** drept sau ușor încurbat, dispus izolat, în mici grămezi sau, caracteristic, în aglomerări globulare compacte de bacili aliniați paralel și cap la cap, numite „globi”, cel mai frecvent intracelular în macrofage (CD 19-7).

Bacilul leprei nu cultivă pe medii de cultură acelulare. Recent, a fost obținută o cultură de celule ce permite multiplicarea *M. leprae*; cultivarea este lentă, la temperatura optimă de 30°C. Înainte de aceasta izolarea *M. leprae* era posibilă numai prin inocularea unui mamifer sud-american, tatuul cu nouă brăie, singura gazdă de laborator receptivă la lepră.

Lepra debutează după o incubație de 2-4 ani și evoluează cronic, foarte lent. Există două forme majore de lepră: tuberculoidă și lepromatoasă. Tipul populației T-helper care răspunde infecției pare a dicta forma de boală: pacienții cu răspuns predominant TH1 dezvoltă lepră tuberculoidă cu răspuns imun celular puternic la antigene ale *M. leprae*, în timp ce pacienții cu răspuns predominant TH2 au imunitatea celulară anti-*M. leprae* deficitară și dezvoltă lepră lepromatoasă.

Lepra tuberculoidă este caracterizată prin macule sau plăci extinse pe trunchi, față și membre. Leziunile granulomatoase au o margine eritematoasă elevată și un centru uscat, care poate fi hipopigmentat, fără fire de păr. Leziunile sunt paucibacilare. *Mycobacterium leprae* invadează nervii senzitivi, producând anestezie regională, care favorizează traumatismele și infecțiile bacteriene secundare severe (CD 19-8). În leziuni abundă celule gigante și un infiltrat limfocitar.

Deoarece imunitatea celulară este intactă în lepra tuberculoidă, pacienții prezintă o reacție de sensibilizare întârziată la lepromin, un antigen al *M. leprae* derivat din țesut

lepromatos și analog tuberculei.

Tabelul 19-1 Micobacterii atipice

Grup și specii	Rezervorul	Manifestări clinice uzuale, tratament, observații
Grupul I fotocromogen		
<i>M. kansasii</i>	Apă, vite	Pulmonare sau alte localizări. Asocierea rifampicină + etambutol + HIN
<i>M. marinum</i>	Pești, apă	Ulceratii cutanate; noduli și abcese subcutanate. Exereză chirurgicală + tetraciclină, rifampicină sau etambutol. Creștere relativ lentă la 30°C.
Grupul II scotocromogen		
<i>M. scrofulaceum</i>	Sol, apă	Limfadenite cervicale la copii. Rar alte boli granulomatoase. Exereză chirurgicală. Rezistența la antibiotice comună.
<i>M. szulgai</i>	Necunoscut	Rar infecții pulmonare similare tuberculozei.
<i>M. goodii</i>	Apă	Nepatogen
<i>M. phlei</i>	Ambient	Nepatogen
Grupul III noncromogen		
Complexul <i>avium-intracellulare</i>	Sol, apă, păsări, porci, vite	Rar la gazda normoreactivă: infecții pulmonare, ganglionare, osteo-articulare. Frecvent la pacienții cu SIDA: infecții sistemice. Noile macrolide (claritromicină, azitromicină) + etambutol; mai sunt active: rifabutin, clofazimină, fluorochinolone, amikacină.
<i>M. xenopi</i>	Apă, păsări	Infecții similare tuberculozei la pacienți cu pneumopatii preexistente.
<i>M. ulcerans</i>	Om, ambient?	Înrudit cu <i>M. marinum</i> , infecțiile asemănătoare pot fi grave. Creștere foarte lentă la 33°C.
<i>M. malmoense</i>	Necunoscut, ambient	Rar infecții similare tuberculozei.
<i>M. genavese</i>	Om, mici păsări?	Infecții diseminate la pacienți cu SIDA. Fastidios. Nu crește pe mediul L-J.
<i>M. haemophilum</i>	Necunoscut	Leziuni granulomatoase la pacienți imunocompromiși. Crește numai pe medii îmbogățite cu hemină.
<i>M. gastri</i>	Spălătură gastrică	Nepatogen
Complexul <i>M. terrae-triviale</i>	Sol, vegetație	Nepatogen
Grupul IV cu creștere rapidă		
Complexul <i>M. fortuitum-chelonae</i>	Sol, apă, animale	Abcese subcutanate, rar infecții diseminate. Amikacină, doxiciclină, cefoxitin, eritromicină, rifampicină. <i>M. chelonae</i> este mai sensibil la antibiotice.
<i>M. smegmatis</i>	Microbiota genitală	Nepatogen

Lepra lepromatoasă, malignă, evoluează bacteriemic, deși boala nu este manifestă în organele profunde. Leziunile sunt mari, difuze, granulomatoase, se ulcerează și abundă în bacili, de aceea lepra lepromatoasă este forma contagioasă a bolii. Implicarea nervilor senzitivi este difuză și anestezia regională comună. Leziunile lepromatoase se dezvoltă cu precădere în regiunile corpului cu temperatură relativ scăzută, e.g., tegumentul feței (CD 19-9) și

extremităților ș.a. Ca urmare, pacienții prezintă un facies caracteristic, leonin (CD 19-9 bis).

Pacienții cu lepră lepromatoasă sunt anergici la lepromin.

În circumstanțe clinice sugestive, diagnosticul de laborator al leprei se bazează pe depistarea microscopică în exsudatul nasal (forma lepromatoasă) sau în biopsii din leziuni cutanate (forma tuberculoidă) a **baar** necultivabili.

Tratamentul leprei se face cu dapsonă, administrată timp de 2-4 ani. Datorită apariției rezistenței la dapsonă, este necesară administrarea concomitentă de rifampicină sau clofazimină.

Sursa de infecție sunt bolnavii. Pacienții cu lepră lepromatoasă sunt contagioși. Majoritatea infecțiilor sunt contractate în copilărie. Infecția este probabil transmisă prin contactul direct cu leziuni tegumentare sau prin inhalare de pulberi contaminate.

Profilaxia leprei se face prin depistare, izolare și tratament antilepros. Vaccinarea BCG a dat rezultate bune în zone cu prevalență înaltă a leprei tuberculoide. Educația sanitară joacă un rol important în controlul leprei.

OLIVIA DORNEANU

„În 1723, Deidier împărtășea aceeași opinie și se pronunța formal în favoarea ipotezei emise de von Hutten și Fracastor cu două sute de ani mai înainte: «Virusul venerian nu este altceva decât mici viermi vii...care pot să se multiplice ușor cum o fac insectele.»”

MAURICE BARIÉTY, CHARLES COURY

„În amintirea camarazilor din Regim...Dâmbovița răpuși de tifos exantematic și febră recurentă în satele Poiana Cârnău și Dumitrești Galății...Decembrie 1917”

EPITAF pe o piatră măcinată de vreme la margine de drum

„Din dobitoacele ce mișună pe pământ, iată care sunt necurate pentru voi: cârțița, șoarecele și șopârla cu neamurile lor; Tot vasul de lut, în care va cădea vreuna din ele, să-l spargeți, iar cele din el sunt necurate.”

MOISE, LEVITICUL 11:29, 33

Bacteriile din ordinul *Spirochaetales* (gr. *speira* buclă; gr. *chaete* păr; bacterii în formă de păr buclat) au fost grupate împreună pe baza proprietăților lor morfologice comune. Spirochetele sunt bacterii gram-negative subțiri, spiralate. Ordinul *Spirochaetales* este subdivizat în două familii și 8 genuri, dintre care numai trei produc infecții umane: *Treponema* și *Borrelia* din familia *Spirochaetaceae* și *Leptospira* din familia *Leptospiraceae*.

20.1. GENUL *TREPONEMA*

Minidefiniție. Treponemele (gr. *trepo*, a învârti, a merge în diferite direcții; gr. *nema*, fir; organism filiform care are curburi) sunt spirochete subțiri, de 0,1-0,3 μm/5-20 μm lungime. Mobilitatea le este asigurată prin mai multe fibre axiale periplasmice înrulate în jurul protoplastului și inserate la extremitățile cilindrului protoplastic prin corpi bazali. Strict anaerobe sau microaerofile, sunt foarte pretențioase nutritiv. Speciile patogene nici nu cultivă pe medii artificiale.

Interes medical prezintă *Treponema pallidum* (cu 3 subspecii) și *Treponema carateum*. Toate sunt morfologic identice, produc răspuns imun încrucișat și sunt sensibile la penicilină. Se deosebesc numai prin caracterele epidemiologice și bolile determinate. Câteva specii necultivabile, cunoscute sub acronimul PROS (*Pathogen Related Oral Spirochetes*) sunt semnificativ asociate parodontitelor și gingivitelor ulcerative.

20.1.1. *Treponema pallidum*

Treponema pallidum (Schaudinn și Hoffmann, 1905; lat. *pallidum*, pal, palid; după aspectul organismului în microscopia pe fond negru) subspecia *pallidum* (menționată de acum înainte ca *T. pallidum*) este agentul etiologic al sifilisului.

(1) **Habitat.** *Treponema pallidum* este un patogen strict uman. Sifilis experimental a fost produs la primate și la iepuri. Curent în laborator este folosit iepurele pentru întreținerea tulpinilor de *Treponema pallidum*.

(2) **Caractere microscopice.** *Treponema pallidum* este o spirochetă subțire, cu capete efilate și 4-14 spire regulate, de 0,1 x 5-15 μm; mobilă, cu mișcări de flexie, înșurubare și

translație lentă (CD 20-1). Spirochetele sunt prea subțiri pentru a fi observate pe preparate colorate Gram sau Giemsa. Pot fi vizualizate în microscopie cu fond întunecat sau după colorare cu anticorpi anti-treponemici specifici marcați fluorescent. După colorare prin impregnare argentică apare deformată.

(3) **Caractere de cultivare.** Nu cultivă pe medii aceluare. Creștere săracă poate fi obținută pe culturi de celule epiteliale de iepure, dar replicarea este lentă (timp de generație 30 ore) și poate fi menținută doar câteva generații.

(4) **Rezistența în mediul extern.** *Treponema pallidum* este extrem de fragilă; nu supraviețuiește la uscăciune sau dezinfectante. La temperatura camerei, pe obiecte contaminate, își pierde virulența în aproximativ 2 ore. În sânge la 4°C rămâne virulentă până la 24 ore, interval în care mai este posibil sifilisul posttransfuzional. La 42°C moare după o oră, sensibilitate pe care se bazează piritoterapia neurosifilisului. Este deosebit de sensibilă la acțiunea blocanților grupărilor -SH (ionii de Hg, As trivalent, Bi).

(5) **Structura antigenică.** *Treponema pallidum* are 3 tipuri de antigene:

- o haptene lipidică, comună treponemelor patogene și țesuturilor animale (*cardiolipin*);

- antigene comune treponemelor patogene și celor cultivabile, antigenul proteic de grup;

- antigene poliozidice și proteice proprii treponemelor patogene. În practică sunt folosite suspensii ale tulpinii Nichols de *T. pallidum* întreținută prin inoculare intratesticulară la iepuri.

(6) **Factori de virulență.** Proteine ale membranei externe mediază aderența la celulele gazdă. Hialuronidaza poate facilita infiltrarea perivasculară. Coafarea cu fibronectină produsă de celulele gazdă o protejează împotriva fagocitozei. *Treponema pallidum* este o bacterie facultativ intracelulară.

(7) **Patogenitate naturală și patogenie.** Distrucția tisulară rezultă în principal din răspunsul imun al gazdei la infecție. Evoluția clinică a sifilisului recunoaște 3 stadii.

Poarta de intrare a infecției este obișnuit genitală: eroziuni tegumentare sau mucoasa genitală intactă. **Stadiul primar** este caracterizat prin unul sau mai multe șancru de inoculare, mucoase sau cutanate, apărute după o incubatie de 10-60 zile (în medie 21), la poarta de intrare. Inițial leziunea este o papulă, care apoi se ulcerează devenind un ulcer nedureros, situat pe o bază infiltrativă dură (șancru tare), cu margini ridicate, cu suprafața curată, de culoare roșie-jambonată (CD 20-2). Deși spirochetele sunt diseminate sanguin curând după infecție, șancrul reprezintă locul principal al replicării inițiale. La majoritatea pacienților, după 1-2 săptămâni de evoluție a șancrului, apare o limfadenopatie regională, focarul local de multiplicare a spirochetelor. În șancru sunt prezente numeroase spirochete, care pot fi diseminate limfatic sau sanguin. După aproximativ 2 luni *leziunile sifilisului primar, localizate, superficiale și bogate în treponeme, se vindecă spontan fără cicatrice.*

Examenul histopatologic relevă leziuni de endarterită și periarterită (caracteristice leziunilor sifilitice în toate stadiile) și infiltrarea ulcerului cu leucocite polimorfonucleare și macrofage. Spirochetele sunt fagocitate, dar supraviețuiesc intracelular.

Sifilisul secundar. Treponemele invadează torrentul sanguin și determină numeroase leziuni metastatice. După 2-12 săptămâni de la debutul șancrului pacienții prezintă sindrom gripal și o erupție cutaneo-mucoasă diseminată (macule, papule, pustule), inclusiv pe palme și tălpi (CD 20-3), care poate dispărea spontan după câteva săptămâni sau luni. Pot să apară meningite, corioretinite, hepatite, nefrite, periostite sifilitice. *Leziunile sifilisului secundar, generalizate, bogate în treponeme, se vindecă spontan fără cicatrice. Pot fi recidivante.*

După stadiul secundar evoluția sifilisului este variabilă: cca 25% din pacienți se vindecă microbiologic; la alți 25% infecția evoluează **latent** toată viața. Numai la aproximativ

50% din pacienți infecția se reactivează precoce (după 2-3 ani) sau tardiv (10-20 ani). Leziunile **sifilisului terțiar**, localizate, distructive și sărace în treponeme (CD 20-4), sunt expresia unei sensibilizări de tip IV pe un fond de imunitate relativă a gazdei. Unele sunt relativ benigne, cu caracter granulomatos: gomele osoase și cutanate. Altele, sclerozele, afectează organe vitale. Nomenclatura sifilisului terțiar reflectă ce organe sunt afectate în principal (e.g., neurosifilis: paralizie generală progresivă, tabes; sifilis cardiovascular: anevrisme, insuficiență aortică). În ciuda terapiei adecvate a sifilisului primar, incidența neurosifilisului la pacienți cu SIDA este mare.

Sifilisul congenital. Sifilisul se poate transmite transplacentar, ducând la infecții latente, malformații multiorganice sau moarte fetală. La copii netratați apar distrucție osoasă tardivă și sifilis cardiovascular.

(8) Imunitatea. Pacienții cu sifilis activ sau latent sunt rezistenți la reinfecția cu *T. pallidum*. Această rezistență dispare după vindecarea bacteriologică: este o imunitate de infecție în care limfocitele specific sensibilizate au rol mai important decât anticorpii antitreponemici. Limfocitele iepurilor sifilizați au acțiune imobilizantă și citotoxică asupra treponemelor. În stadiile primar și secundar ale sifilisului răspunsul imun celular este deprimat; aceasta explică generalizarea infecției și densitatea mare a treponemelor în leziuni, în ciuda prezenței anticorpilor antitreponemici. Odată cu instalarea răspunsului imun celular evoluția infecției este funcție de reactivitatea gazdei (☞ mai sus).

(9) Diagnosticul de laborator.

Microscopia. Sifilisul primar, secundar sau congenital poate fi diagnosticat rapid prin microscopie pe fond întunecat a exsudatului din leziuni cutanate sau mucoase. Totuși, testul poate fi luat în considerare doar dacă produsul patologic conține spirochete mobile, iar examenul este făcut imediat de către un microbiolog experimentat. Spirochetele nu supraviețuiesc transportului la laborator și resturi tisulare pot fi confundate cu spirochete. Materialul recoltat din leziuni orale nu trebuie examinat deoarece proba poate fi contaminată cu spirochete orale nesemnificative. *Treponema pallidum* poate fi identificată specific folosind anticorpi anti-treponemici marcați cu fluoresceină. Organismele pot fi observate și pe secțiuni histopatologice din leziunile tisulare colorate prin impregnare argentică.

Serologia. Sifilisul este diagnosticat la majoritatea pacienților pe baza testelor serologice. Există două tipuri de teste: nespecifice și specifice.

(i) **Testele nespecifice** măsoară anticorpii IgG și IgM (numiți și *reagine*) apăruți împotriva lipidelor eliberate din celulele distruse în cursul primului stadiu al bolii și prezente pe suprafața treponemelor. Antigenul utilizat pentru aceste teste este *cardiolipinul*, obținut din cordul de bou. Cele mai utilizate teste sunt VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*), și RPR (*Rapid Plasma Reagin*). Ambele măsoară flocularea cardiolipinului de către serul pacientului, sunt rapide și se pozitivează precoce. Numai VDRL poate fi utilizat pentru testarea LCR la pacienți suspecți de neurosifilis.

Reacții fals-pozitive pot apărea în: boli acute febrile, vaccinare recentă, sarcină, boli autoimune sau de colagen, infecții hepatice cu distrucție tisulară, pacienți în vârstă.

(ii) **Testele specifice** sunt utilizate pentru confirmarea rezultatelor pozitive prin VDRL sau RPR. Testele specifice pot fi pozitive înaintea testelor nespecifice sau pot rămâne pozitive la pacienți cu sifilis terțiar, la care testele nespecifice s-au negativat. Cele mai utilizate teste specifice sunt FTA-ABS (*Fluorescent treponemal antibody absorption*) și TPHA (*Treponema pallidum hemagglutination*). TPHA este mai simplă din punct de vedere tehnic și mai ușor de interpretat decât FTA-ABS.

Specificitatea testelor treponemice este de 97-99%, cele mai multe reacții fals-pozitive apărând la pacienți cu niveluri ridicate ale globulinelor serice și boli autoimune. Multe din reacțiile fals-pozitive sunt recunoscute prin tehnica Western blot cu antigen *T. pallidum*.

integral; aceasta ar putea deveni testul de confirmare preferat.

Reacțiile pozitive în *testele nespecifice* apar târziu în cursul sifilisului primar. Totuși, testele serologice se pozitivează la toți pacienții în interval de 3 luni și rămân pozitive la pacienți cu sifilis secundar netratați. Titrurile anticorpilor scad lent la pacienți cu sifilis netratat. Serologia este negativă la aproximativ 25-30% din pacienții cu sifilis terțiar. Deși rezultatele *testelor treponemice* rămân în general pozitive toată viața la un pacient cu sifilis, un test negativ nu este semnificativ la pacienți cu SIDA.

Tratamentul corect al sifilisului primar sau secundar și, în mai mică măsură, al sifilisului terțiar, duce la scăderea titrurilor VDRL și RPR. De aceea, aceste teste pot fi utilizate pentru monitorizarea eficienței terapeutice, deși seroreversia este încetinită la pacienți în stadiu avansat de boală, cei cu titruri inițiale mari și cei care au mai avut anterior sifilis. Testele treponemice sunt mai puțin influențate de terapie decât VDRL și RPR.

Reacții serologice pozitive la nou-născuți din mame infectate pot reprezenta un transfer pasiv de anticorpi sau un răspuns imun specific la infecție. Diferențierea acestor două situații se face prin titrarea în dinamică a anticorpilor nou-născutului, într-un interval de 6 luni. Titrul anticorpilor unui nou-născut neinfestat scade până la nivele nedecelabile în 3 luni după naștere, dar rămâne crescut la nou-născuți cu sifilis congenital. Depistarea anticorpilor specifici de clasă IgM în serul nou-născutului semnifică de asemenea sifilis congenital.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Penicilina este antibioticul de elecție pentru tratamentul infecțiilor cu *T. pallidum*. Benzatin-penicilina este utilizată în primele stadii ale sifilisului, iar penicilina G este recomandată pentru tratamentul sifilisului tardiv sau congenital. Doxyciclina și tetraciclina sunt alternative pentru pacienții alergici la penicilină. Doar penicilina poate fi utilizată în tratamentul neurosifilisului sau la femei însărcinate.

Tratamentul intempestiv cu penicilină al sifilisului generalizat poate declanșa după câteva ore o reacție Jarisch-Herxheimer, datorată distrugerii rapide a unui număr mare de treponeme și eliberării masive de endotoxină.

(11) Epidemiologie. Omul este singura gazdă naturală pentru *T. pallidum*. Cea mai frecventă cale de transmitere este prin contact sexual. Datorită fragilității deosebite, *T. pallidum* nu poate fi transmisă prin obiecte contaminate. Infecția mai poate fi transmisă transplacentar sau prin transfuzii cu sânge contaminat.

Pacienții cu risc crescut includ adolescenți și adulți activi sexual și nou-născuți din mame cu sifilis activ. Cele mai contagioase sunt leziunile sifilisului primar și secundar care sunt bogate în treponeme. Pacienții cu leziuni genitale active au un risc mai mare de a se infecta sau transmite HIV.

(12) Profilaxie. Deoarece un vaccin împotriva sifilisului nu este disponibil, acesta poate fi prevenit doar prin practicare de sex protejat, depistarea și tratarea partenerilor sexuali ai pacienților cu infecție diagnosticată. Educația morală este cel puțin tot atât de importantă ca și cea sexuală.

20.1.2. Alte treponeme

Trei treponematoze non-veneriene sunt importante: bejel, pian, pinta, observate mai ales la copii din țările subdezvoltate ale regiunilor tropicale.

Bejelul (sifilisul endemic) este produs de *T. pallidum* subspecia *endemicum*. Infecția este transmisă de la bolnav prin veselă contaminată. Leziunile orale inițiale sunt rareori observate; leziuni secundare includ papule orale și plăci mucoase. Leziuni gomatoase ale pielii, oaselor și nasofaringelui sunt manifestări tardive. Boala este prezentă în zonele uscate din Africa, Asia și Australia.

Treponema pallidum subspecia *pertenue* este agentul etiologic al **pianului**, o boală granulomatoasă în care pacienții au leziuni cutanate în fazele inițiale ale bolii (CD 20-5); tardiv, prezintă leziuni distructive ale pielii, ganglionilor limfatici și oaselor. Boala este prezentă în zone tropicale primitive din Africa Ecuatorială, America de Sud și Asia de Sud-Est și se transmite prin contact direct cu leziunile cutanate.

Treponema carateum produce **pinta (carate)**, boală ce afectează în principal pielea. După o incubatie de 1-3 săptămâni, pe suprafața pielii apar papule mici pruriginoase. Aceste leziuni se măresc și persistă luni sau ani. Leziuni diseminate, recurente, hipopigmentate pot apare de-a lungul anilor, ducând la cicatrice și desfigurări. Pinta este prezentă în America Centrală și de Sud. Se răspândește prin contact direct cu leziunile infectate.

Bejelul, pianul și pinta sunt diagnosticate prin leziunile clinice tipice în arii endemice. Diagnosticul de pian sau pinta (nu și bejel) poate fi confirmat prin depistarea spirochetelor în leziuni cutanate prin microscopie pe fond întunecat. Testele serologice pentru sifilis sunt de asemenea pozitive.

Penicilina este antibioticul de elecție; tetraciclina și cloramfenicolul pot fi utilizate alternativ.

Răspândirea acestor infecții este prevenită prin tratarea persoanelor infectate și prevenirea răspândirii de la om la om.

20.2. GENUL *BORRELIA*

Borrelia (de la numele bacteriologului francez A. Borrel) produc două boli umane importante: febra recurentă și boala Lyme. Prima menționare a bolii Lyme a fost în 1977, când a apărut un focar de artrită la copii în Lyme, Connecticut. Cinci ani mai târziu, Burgdofer a descoperit spirochetele responsabile pentru această boală.

Minidefiniție. Genul *Borrelia* cuprinde spirochete groase, cu 3-10 spire laxo și neregulate, mobile prin 7-20 fibre axiale periplasmice per extremitate. Au mișcări de înșurubare și oscilație. Pretențioase- nutritiv, microaerofile, borrelia cultivă lent. Sunt menținute în natură printr-un ciclu care implică animale sălbatice sau omul și artropode hematofage.

20.2.1. Borrelia febrei recurente

Febra recurentă este o boală febrilă caracterizată prin episoade recurente de febră și septicemie, separate de perioade de afebrilitate. Sunt cunoscute 2 forme de boală. *Borrelia recurrentis* este agentul etiologic al febrei recurente epidemice transmisă prin păduchele de corp uman, *Pediculus humanus*. A fost descoperită în 1868 și comunicată în 1873 de Obermeier. Febra recurentă endemică este produsă de 15 specii de borrelia și este transmisă prin căpușe infectate din genul *Ornithodoros*.

(1) **Habitat.** Majoritatea borrelia febrei recurente sunt transmise prin căpușe din genul *Ornithodoros*. Excepția este *B. recurrentis*, găzduită de păduchele de corp (*Pediculus humanus humanus*), care nu transmite spirochetele transovarian. De aceea, omul este singurul rezervor de *B. recurrentis*. Toate stadiile de dezvoltare ale căpușelor *Ornithodoros* preferă să se hrănească pe o singură specie de mamifere (majoritatea rozătoare); omul este gazdă ocazională.

(2) **Caractere microscopice.** Au morfologia caracteristică genului.

(3) **Caractere de cultivare.** Borrelia cultivă lent în microaerofilie sau anaerobioză și au necesități nutritive complexe (N-acetilglucozamină, acizi grași saturați și nesaturați cu catenă lungă), de aceea sunt dificil de cultivat. Deoarece culturile rămân în general negative, diagnosticul febrei recurente se face microscopic.

(4) **Rezistența în mediul extern.** Microorganisme fragile, sunt adaptate transmiterii prin artropode hematofage (păduchi, căpușe).

(5) **Structura antigenică.** *Borrelia recurrentis* este capabilă de variație antigenică (există cel puțin 26 gene care codifică proteine variabile majore, PVM). Rearanjarea genelor ce codifică PVM este baza variației antigenice a acestui organism. Specificitatea de serotip este determinată de lipoproteine membranare variabile.

(6) **Factori de virulență.** *Borrelia recurrentis* suferă variație antigenică și scapă răspunsului imun. Proliferarea unei tulpini noi, mutante, produce o recurență. Recurențe succesive sunt asociate cu emergența de tulpini diferite antigenic.

(7) Patogenitate naturală și patogenie. După expunerea unei persoane la artropode infectate, borreliile sunt răspândite hematogen în multe organe. Borreliile sunt îndepărtate rapid odată cu apariția răspunsului imun. Ciclurile periodice febrile și afebrile de febră recurentă se datorează capacității borreliilor de a suferi variație antigenică. După formarea IgM specifici, apare aglutinarea cu liză mediată de complement și borreliile sunt îndepărtate rapid din sânge. Microorganismele rămase în țesuturi își modifică proteinele membranei externe specifice de serotip prin rearanjare genică și apar ca organisme antigenic noi. Manifestările clinice ale febrei recurente sunt în parte datorate răspunsului la eliberarea de endotoxină.

Manifestările clinice ale febrei recurente epidemice și, respectiv, endemice sunt similare, deși poate apărea o mică escară pruriginoasă la locul înțepăturii căpușei. După o incubatie de 1 săptămână, boala debutează brusc prin febră, dureri musculare, hepatosplenomegalie, corespunzător fazei bacteriemice a bolii; semnele dispar după 3-7 zile, odată cu dispariția borreliilor din sânge. Bacteriemia și febra reapar după o săptămână de afebrilitate. Simptomele clinice sunt în general mai estompate și durează mai puțin în cursul recurențelor. O singură recurență este caracteristică bolii epidemice, transmisă prin păduche, mai multe în febra recurentă endemică, transmisă prin căpușe. Evoluția clinică este în general mai severă și mortalitatea mai mare în febra recurentă endemică.

(8) Imunitatea. În cursul bolii variația antigenică se face probabil către un tip antigenic unic, ceea ce asigură vindecarea clinică (infecția poate persista latent). Pasajul prin artropodul vector asigură reversia către tulpina sălbatică variabilă.

(9) Diagnosticul de laborator.

Microscopia. Datorită numărului mare și mărimii lor, borreliile febrei recurente pot fi observate în cursul episodului febril pe frotiu de sânge periferic colorat Giemsa (CD 20-6) sau Wright ori pe preparat umed din o picătură de sânge examinat prin microscopie pe fond întunecat. Microscopia este cea mai sensibilă metodă de diagnostic a febrei recurente (70%). Sensibilitatea testului poate fi îmbunătățită prin inocularea unui șoarece cu sânge de la bolnav și examinarea după 1-10 zile a sângelui animalului, pentru depistarea borreliilor.

Cultivarea. Unele borrelii, inclusiv *B. recurrentis*, pot fi cultivate *in vitro* pe medii speciale. Culturile sunt totuși rareori efectuate în laboratoarele clinice din cauza cultivării lente a borreliilor și a disponibilității reduse a mediilor de cultură necesare.

Serologia. Teste serologice nu sunt utile în diagnosticul febrei recurente din cauza variației antigenice a borreliilor în cursul bolii.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Cel mai eficient tratament al febrei recurente este cu doxiciclină sau eritromicină. Doxiciclina este antibioticul de elecție, dar este contraindicată la femeile însărcinate și copiii mai mici de 8 ani. La câteva ore după începerea terapiei poate apare o reacție Jarisch-Herxheimer, corespunzătoare omorârii brutale a borreliilor și eliberării de produși toxici (endotoxină).

(11) Epidemiologie. Rezervor de infecție pentru *B. recurrentis* este omul, iar vector păduchele de corp. Păduchii se infectează în cursul prânzului sanguin de la o persoană infectată. Bacteriile sunt ingerate, trec prin peretele intestinal și se multiplică în hemolimfă. Omul se infectează ca urmare a strivirii păduchilor în cursul prânzului sanguin. Deoarece păduchii infectați supraviețuiesc numai o scurtă perioadă de timp, răspândirea bolii apare în condiții de aglomerație, când minimum de igienă corporală și vestimentară nu poate fi respectat, ca în război, dezastre naturale. Receptivitatea este generală. Actualmente febra recurentă epidemică pare a fi restrânsă la Etiopia, Ruanda, baza Anzilor.

Febra recurentă endemică este o zoonoză. Principalul rezervor sunt rozătoarele, mamiferele mici și căpușele *Ornithodoros*; multe specii de *Borrelia* produc această boală. Artropodele mențin un rezervor endemic de infecție prin transmitere transovariană. Căpușele

pot supraviețui mai multe luni între prânzuri. Ele contaminatează tegumentul la locul mușcăturii cu borrelii prezente în salivă sau fecale. Răspândirea febrei recurente endemice este cosmopolită.

(12) **Profilaxie.** Prevenirea febrei recurente presupune dezinsecție, deratizare și îmbunătățirea condițiilor igienice.

20.2.2. *Borrelia burgdorferi*

Boala Lyme este o infecție transmisă prin căpușe, cu manifestări variate: dermatologice, reumatologice, neurologice, cardiace. Trei borrelii produc boala Lyme: *B. burgdorferi* (Europa, S.U.A.), *B. garinii* și *B. afzelii* (Europa, Japonia). Ca specie tip descriem *B. burgdorferi*.

(1) **Habitat.** *Borrelia burgdorferi* este transmisă prin căpușe din genul *Ixodes*, care se hrănesc pe 3 gazde diferite, funcție de stadiul de dezvoltare. Larvele și nimfele se hrănesc pe rozătoare mici, în timp ce căpușele adulte se hrănesc pe diverse mamifere (căprioare, carnivore domestice și sălbatice, animale domestice mari, păsări). Prânzul căpușelor *Ixodes* este lung (zile, până la peste o săptămână) și contribuie la dispersia geografică odată cu deplasarea gazdei.

(2) **Caracterele microscopice**, (3) **cele de cultivare** și (4) **rezistența în mediul extern** sunt comune genului.

(5) **Structura antigenică.** Probabil există înrudiri antigenice între borreliile bolii Lyme și antigene ale gazdei umane.

(6) **Factori de virulență.** Incriminați sunt:

- Proteine ale membranei externe: OspA și OspC. Schimbarea expresiei de la OspA la OspC, care apare în cursul prânzului sanguin pe om sau șoarece, induce migrarea boreliilor din intestinul căpușei spre glandele salivare;

- Reacții imunologice încrucișate ale unor structuri ale gazdei cu antigene ale *Borrelia* pot explica manifestările clinice tardive în boala Lyme.

(7) **Patogenitate naturală și patogenie.** După o incubatie de 3-30 zile, la locul înțepăturii căpușei apar una sau mai multe leziuni cutanate. Leziunea, *eritem migrator*, este la început o maculă sau papulă, care crește în dimensiuni în următoarele săptămâni ajungând la o suprafață cu diametrul de 5-50 cm. La apariția eritemului migrator *B. burgdorferi* este prezentă în număr mic în leziunile cutanate. Leziunea este eritematoasă la periferie și se decolorează în centru pe măsură ce crește în dimensiuni; pot fi observate și eritem, formare de vezicule și necroză centrală. Leziunea pălește și dispare în câteva săptămâni. Pot apare și alte leziuni tranzitorii.

Manifestările tardive apar la aproximativ 80% din pacienții cu boală Lyme netratată, la o săptămână până la 2 ani de la debutul bolii. Stadiul tardiv constă în 2 faze: prima implică manifestări neurologice (meningită, encefalită, neuropatie de nervi periferici) și disfuncții cardiace (miopericardită, insuficiență cardiacă congestivă), care durează câteva zile sau săptămâni; a doua fază este caracterizată prin artralгии și artrită, care pot persista luni sau ani, interval în care spirochetele sunt rareori observate în țesuturile implicate sau izolate în cultură.

(8) **Imunitate.** Deși răspunsul imun împotriva *B. burgdorferi* este deprimat la momentul apariției leziunilor cutanate, anticorpii apar în decurs de luni sau ani și sunt răspunzători de liza mediata de complement a borreliilor.

(9) **Diagnosticul de laborator.**

Microscopia sângelui, a sedimentului LCR (colorații cu acridin orange, Giemsa sau imunfluorescență directă) sau a țesuturilor (impregnație argentică) de la pacienți cu boală Lyme nu este recomandată din cauza numărului foarte redus de borrelii în produse patologice.

Cultivarea. Sensibilitatea cultivării *B. burgdorferi* este mică pentru toate produsele

patologice, cu excepția leziunilor cutanate inițiale, care sunt patognomonice, deci nu necesită cultivare.

Serologia confirmă diagnosticul bolii Lyme. Testele cele mai utilizate sunt imunfluorescența și ELISA, ultima fiind mai sensibilă și mai specifică în toate fazele bolii. Toate testele sunt relativ lipsite de sensibilitate în faza acută a bolii. IgM apar după 2-4 săptămâni de la apariția eritemului migrator la pacienți netratați. Titrul maxim este atins după 6-8 săptămâni de boală și apoi revine la normal după 4-6 luni. Nivelul IgM poate rămâne crescut la pacienți cu infecție persistentă. Anticorpii IgG apar mai târziu, ating maximum după 4-6 luni de boală și persistă în cursul manifestărilor tardive ale bolii. Prezența anticorpilor în LCR este un argument puternic pentru neuroborelioză.

Reacții fals-pozitive apar la pacienți cu sifilis sau boli autoimune. Pentru confirmarea unei reacții ELISA pozitive poate fi utilizat Western blot. Heterogenitatea antigenică a *B. burgdoferi* și a altor borelii care produc boala Lyme afectează sensibilitatea testului.

Depistarea ADN specific pentru *Borrelia* prin reacția de amplificare genică este utilă în diagnosticul bolii Lyme.

(10) Elemente de terapie etiotropă. În manifestările precoce ale bolii Lyme sunt eficiente doxiciclina sau amoxicilina administrate oral. Cefuroxima este o alternativă. Tratamentul cu antibiotice scade probabilitatea și severitatea complicațiilor tardive. Totuși, artrita Lyme și alte complicații apar la un număr redus de pacienți. Ceftriaxona, doxiciclina sau amoxicilina administrate parenteral pot fi utilizate în tratamentul acestor manifestări. Pacienții cu afectare neurologică și musculo-scheletică necesită tratament prelungit.

(11) Epidemiologie. Rezervorul boreliilor bolii Lyme este reprezentat de șoareci, căprioare, căpușe; vectorii includ căpușe *Ixodes* (*Ixodes ricinus* în Europa, *Ixodes persulcatus* în Europa de Est). Larvele de *Ixodes* se infectează în cursul unui prânz sanguin pe șoarece. Omul poate fi gazdă accidentală când nimfa dezvoltată din larvă ia un al doilea prânz sanguin. Boreliile sunt transmise prin saliva căpușei în cursul unui prânz prelungit (cel puțin 48 ore). Deși căprioara este gazda naturală pentru căpușele adulte, omul poate fi din nou infectat accidental în cursul celui de-al treilea prânz sanguin, după transformarea nimfei în căpușă adultă.

Persoane cu risc crescut pentru boala Lyme sunt cele expuse la căpușe în arii cu endemicitate crescută.

(12) Profilaxie. Boala Lyme poate fi prevenită prin evitarea habitatului natural al căpușelor, folosirea îmbrăcămintei protectoare, folosirea repelenților de insecte, deratizare.

Un vaccin recombinant folosind gena ce codifică o lipoproteină de suprafață (*ospA*) a fost utilizat cu succes în prevenirea bolii Lyme. Anticorpi circulanți împotriva acestui antigen trebuie să fie prezenți în momentul înțepăturii căpușei. Anticorpii sunt transferați la căpușă și inactivează boreliile în intestinul insectei. Este cunoscută heterogenitatea antigenului *ospA* la diferite specii de *Borrelia*, de unde și interesul pentru înlocuirea acestui vaccin.

20.3. GENUL *LEPTOSPIRA*

În 1886 A. Weil a observat și a făcut descrierea clinică a unei boli infecțioase însoțită de icter, pe care a considerat-o de altă etiologie decât cele cunoscute până atunci. În 1918 Noguchi a descris amănunțit morfologia acestor bacterii, numindu-le „leptospire”. Numele genului derivă din faptul că aceste bacterii sunt spirochete subțiri (gr. *leptos* foarte subțire), terminate în cârlig la unul sau ambele capete.

Minidefiniție. Leptospirele sunt spirochete fine (0,1-0,15 μm diametru/5-15 μm lungime) cu 10-30 spire regulate, strânse, puțin adânci și cu unul sau ambele capete încârligate. Mobilitatea le este asigurată printr-un axistil format din 2 flageli periplasmici în jurul cărora se înrolează cilindrul protoplasmic.

Tradițional, genul a fost împărțit pe baza înrudirilor serologice și a patogenității.

Tulpinile patogene au fost plasate în specia *Leptospira interrogans* (*interrogans*, „în formă de semn de întrebare”), cu 218 serovaruri (e.g., *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *pomona*, *autumnalis* etc.). Tulpinile nepatogene au fost plasate în specia *Leptospira biflexa* (*biflexa*, „încurbat de două ori”). Taxonomia remaniată a leptospirelor nu a fost încă acceptată în practica medicală.

(1) **Habitat.** Leptospirele sunt ubicuitare; trăiesc libere în apă sau sunt asociate cu infecții renale la animale. Gazde de întreținere (la care infecția este endemică, de obicei transferată de la un animal la altul prin contact direct) sunt mamifere mici (șobolani, șoareci), care transferă infecția la animale domestice, câini, om (gazde accidentale).

(2) **Caractere microscopice.** Au fost descrise la minidefiniție. Le examinăm pe preparat umed la microscopul cu fond întunecat (CD 20-7). Leptospirele au 2 tipuri de mișcări: de translație sau de rotație.

(3) **Caractere de cultivare.** Leptospirele sunt strict aerobe, temperatura optimă de cultivare 28-30°C și pH-ul optim 7,2-7,6. Cresc în cca 7-10 zile pe medii lichide îmbogățite cu vitamine (B₂, B₁₂), acizi grași cu catenă lungă din serul de iepure sau de bou și săruri de amoniu.

(4) **Rezistența în mediul extern.** În condiții obișnuite leptospirele patogene supraviețuiesc greu în mediul extern. Nu suportă uscăciunea, lumina solară, temperatura sub 14°C și cea peste 28°C, pH-ul acid sau intens alcalin. Supraviețuiesc până la 6 săptămâni în apele de suprafață. Leptospirele patogene sunt distruse de alcoolul etilic, acizi, alcali, cloramină.

(5) **Structura antigenică.** Antigenele mai cunoscute sunt antigenul somatic specific de gen și antigenele de suprafață specifice de grup și tip. *Antigenul somatic*, specific de gen, comun leptospirelor patogene și saprofite, este situat în profunzimea învelișului bacterian. În serologie este utilizat pentru reacțiile de aglutinare și fixare a complementului. *Antigenele de suprafață*, specifice de grup și tip, sunt situate la suprafața învelișului bacterian. Antigenele de suprafață sunt imunogene *in vivo*; sunt active *in vitro*, în principal în reacțiile de aglutinare.

(6) **Factori de virulență.** Virulența, caracter propriu unor tulpini, este explicată până în prezent prin gradul de încovoiere a capetelor celulei la unele tulpini din serogrupurile *sejroe* și *canicola* și prin prezența factorului de virulență Vi, existent la suprafața unor tulpini *icterohaemorrhagiae* și *pomona*. Virulența tulpinii variază în funcție de stadiul de boală și mediul biologic din care provine (e.g., o tulpină care provine din sânge în prima săptămână de boală este mai virulentă decât aceeași tulpină care provine din urină în convalescență).

(7) **Patogenitate naturală și patogenie.** Deoarece leptospirele sunt subțiri și foarte mobile, ele pot penetra mucoasele intacte sau pielea cu leziuni minime. Prin sânge se răspândesc în toate țesuturile, inclusiv sistemul nervos central. *Leptospira interrogans* se multiplică rapid și lezează endoteliul vaselor mici, producând manifestările clinice majore ale bolii (e.g., meningită, disfuncții hepatice și renale, hemoragii). Microorganismele pot fi găsite în sânge și LCR precoce în cursul bolii și în urină în faza tardivă.

Leptospiroza se caracterizează printr-o polisimptomatologie nemaiîntâlnită la alte infecții. Se manifestă prin debut brusc, cu febră ridicată care ulterior are alură bi- sau trifazică, cefalee intensă însoțită de fotofobie și redoarea cefei, mialgii generalizate mai accentuate la nivelul gambelor. Localizarea organică este diversă, frecvent meningeală, hepatică și renală. Severitatea bolii este influențată de numărul organismelor infectante, apărarea imună a gazdei și virulența tulpinii infectante.

Majoritatea infecțiilor cu *L. interrogans* sunt inaparente și pot fi depistate doar prin prezența anticorpilor specifici. Infecțiile simptomatice apar după o incubatie de 1-2 săptămâni. Inițial îmbracă o formă pseudogripală, cu febră și mialgii. Această fază corespunde unei bacteriemii cu leptospire, care pot fi frecvent izolate din LCR, chiar dacă pacientul nu

are semne meningeale. Febra și mialgiile pot dispărea după o săptămână sau boala poate progresa, producând meningită aseptică sau infecție generalizată, cu erupție cutanată, colaps vascular, trombocitopenie, hemoragii (sindrom hemoragic), disfuncție hepatică (sindrom icteric) sau sindrom renal (boală Weil). *Localizarea organică* mai frecventă este la nivelul meningelui, ficatului, rinichiului, tubului digestiv, căilor respiratorii superioare, interstițiului pulmonar. Febra reapare neatingând valorile din faza bacteriemică. După câteva zile poate apărea și al treilea croșet febril. Manifestări mai rare includ coagularea intravasculară diseminată, sindromul Waterhouse-Friederichsen, artrită, adenopatie, complicații oculare, endometrită, avort spontan și deces fetal *ante partum*.

Leptospiroza sistemului nervos central poate fi confundată cu o meningită virală deoarece evoluția bolii este în general necomplicată și are mortalitate redusă. Cultura LCR este în general negativă în această formă de boală. Forma icterică a infecției generalizate este mult mai severă și asociată cu o mortalitate de 10%. Supraviețuitorii nu suferă leziuni hepatice sau renale permanente.

Poate apărea și leptospiroză congenitală.

(8) Imunitate. Leptospirele dispar din organismul bolnavului când apare imunitatea umorală. Totuși, unele manifestări clinice se datorează reacțiilor de sensibilizare. De exemplu, meningita apare după ce leptospirele au dispărut din LCR și complexe imune au fost depistate în leziuni renale.

(9) Diagnosticul de laborator.

Microscopia. Deoarece leptospirele sunt subțiri, ele sunt la limita de rezoluție a microscopului optic. Nici colorația Gram, nici impregnația argentică nu sunt adecvate depistării leptospirelor. Microscopia pe fond întunecat le poate evidenția ca filamente regulat spiralate, luminiscente, foarte mobile, descriind mișcări de „sfredel”, dar este lipsită de sensibilitate și este nespecifică. Deși leptospirele pot fi observate în sângele pacienților în primele zile de boală, filamente proteice eritrocitare pot fi confundate cu acestea. Imunofluorescența directă este o tehnică specifică, dar nu este disponibilă în majoritatea laboratoarelor clinice.

Cultivarea. *Leptospira interrogans* pot fi izolate din sânge sau LCR în primele 10 zile de boală și din urină după prima săptămână de boală, pentru un interval de aproximativ 3 luni. Deoarece concentrația leptospirelor în sânge, LCR și urină poate fi scăzută, în suspiciunea de leptospiroză trebuie recoltate mai multe probe. În plus, inhibitori prezenți în sânge și urină pot întârzia sau face imposibilă depistarea leptospirelor.

Tehnici de biologie moleculară. Reacția de amplificare genică (PCR) este mai sensibilă decât metodele de hibridizare directă. Sisteme comerciale de diagnostic molecular al leptospirozelor nu sunt încă disponibile.

Serologia. Din cauza necesităților nutritive deosebite și a incubării prelungite, majoritatea laboratoarelor nu practică izolarea leptospirelor în cultură și se bazează pe examenul serologic. Metoda de referință este **reacția de aglutinare microscopică**. Acest test măsoară capacitatea serului pacientului de a aglutina leptospire vii. Sunt utilizate 20 de antigene specifice de serotip ale leptospirelor patogene. Aglutininele apar în sângele pacienților netratați în a doua săptămână de boală. Titrul aglutininelor la pacienți infectați este peste 1:100, dar poate ajunge la peste 1:25.000. Prezența anticorpilor aglutinanți în titru mic poate reprezenta o reacție imună diminuată la un pacient cu infecție acută, tratat cu antibiotice sau anticorpi reziduali. Deoarece reacția de aglutinare microscopică folosește leptospire vii, este practică doar în laboratoare de referință. Teste alternative, mai puțin sensibile sau specifice (teste de triere) sunt hemaglutinarea indirectă, aglutinarea pe lamă, ELISA, care folosesc antigene preparate din tulpini saprofite.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Pacienții cu forme severe de boală trebuie tratați precoce cu penicilină sau ampicilină administrată intravenos, cei cu infecții mai puțin severe, cu doxiciclină, ampicilină sau amoxicilină administrate oral.

(11) Epidemiologie. Leptospirele au răspândire cosmopolită. Sunt găzduite de mamifere care pot fi împărțite în trei categorii: gazde de menținere, accidentale și de amplificare.

(i) *Gazdele de menținere*, aparent sănătoase, poartă leptospirele în tubii renali și, posibil, în organele de reproducere. Există o anumită afinitate de gazdă a serovarurilor: e.g., *icterohaemorrhagiae* pentru șobolanul brun, *canicola* pentru porci, *grippotyphosa* și *hebdomadis* pentru șoareci etc. La aceste gazde doza infectantă este foarte mică și infecția se transmite larg intraspecific prin urină sau sexual.

(ii) *Gazdele accidentale* contractează infecția cu variate serovaruri prin elemente de mediu contaminate cu urina gazdelor de menținere sau a altor gazde accidentale. Doza infectantă este mare, infecția frecvent manifestă clinic, portajul renal de durată relativ scurtă. Oamenii sunt gazde accidentale între care infecția nu se transmite epidemic.

(iii) *Gazdele de amplificare* sunt gazde accidentale între care infecția se transmite frecvent epidemic (e.g., animale domestice din crescătorii: vite, porci, câini). Transmit infecția la om ori la gazde de menținere.

Poarta de intrare a leptospirelor în organismul omului este frecvent constituită de pielea lezată, mucoasa conjunctivală și cea nasală. Se pot infecta persoane care se îmbăiază, înoată sau pescuiesc în apele de suprafață contaminate cu leptospire, persoanele care lucrează în apă, soluri umede și mlăștinoase contaminate cu leptospire (e.g., cultivatorii de orez, muncitorii din irigații, instalatorii canal-apă, minierii, gunoierii, muncitorii de pe șantierele de construcții sau șantierele arheologice, agricultorii, militarii în timpul aplicațiilor, îngrijitorii de animale, măcelarii, bucătarii). Există și posibilitatea ca poarta de intrare să fie cea digestivă la persoanele cu aciditate gastrică scăzută, care consumă organe de porc insuficient prelucrate termic sau care folosesc pentru băut și prepararea hranei apa de suprafață contaminată cu leptospire sau apa din puțurile neprotejate.

(12) Profilaxie. Doxiciclina, nu și penicilinele, poate fi utilizată pentru a preveni leptospiroza la persoanele expuse la animale contaminate sau apă contaminată cu urină. Este dificil a eradica leptospiroza deoarece boala este larg răspândită la animale sălbatice și domestice. Vaccinarea șeptelului și a animalelor de companie a redus incidența bolii în aceste populații, deci și expunerea umană consecutivă. Deratizarea este de asemenea o măsură eficientă de eliminare a leptospirozei din populație.

„Cunoscute la animale de la sfârșitul secolului al XIX-lea, micoplasmele și-au amplificat considerabil rolul patogen mai ales la pacienții cu SIDA.”

C. BÉBÉAR, 1993

Clasa *Mollicutes* (lat. *mollis* moale, pliabil; lat. *cutis* piele; clasă de eubacterii cu înveliș moale) a evoluat prin deleție genică din arheoclostridii. Este foarte larg răspândită în natură, găzduită fiind de variate animale și plante. Interes medical prezintă numai familia *Mycoplasmataceae* (gr. *myces* un fung; gr. *plasma* obiect modelat; *-aceae* sufixul care desemnează o familie; familie de eubacterii cu formă de fungi) prin cele câteva specii găzduite de om ca specii patogene ori comensale condiționat patogene.

Minidefiniție. Caracterele care particularizează micoplasmele decurg mai ales din genomul lor limitat: 1. Lipsite de orice capacitate de a sintetiza perete celular, sunt delimitate numai de o membrană trilaminată. 2. Au dimensiuni foarte reduse, mare plasticitate (trec prin filtre cu porozități între 450 și 200 nm) și un polimorfism extrem. 3. Cultivă numai pe medii special îmbogățite în factori de creștere dintre care nu poate lipsi colesterolul. 4. Cultivarea este inhibată prin anticorpi specifici. 5. Sunt rezistente la β -lactamine și alți agenți inhibitori ai sintezei peretelui bacterian.

În familia *Mycoplasmataceae* s-au diferențiat 2 genuri: *Mycoplasma*, care utilizează glucoza, și *Ureaplasma*, care utilizează ureea ca sursă de energie.

21.1. MYCOPLASMA PNEUMONIAE

(1) **Habitat.** Este o specie patogenă găzduită la om în căile respiratorii.

(2) **Caracterele microscopice** sunt cele ale familiei: bacterii foarte mici, filtrabile prin filtre sterilizante pentru bacterii și foarte polimorfe. Au forme filamentoase, forme bacilare, forme cocoide. Ciclul reproductiv al micoplasmelor include alungirea formelor cocoide în forme filamentoase, ramificarea și fragmentarea acestora în noi forme cocoide. Nu pot fi observate pe preparate microscopice colorate uzual deoarece nu sunt colorabile și au diametru redus.

(3) **Caractere de cultivare.** Cultivă numai pe medii îmbogățite cu extract de levură, ser de cal (sursă de colesterol) și glucoză. Este anaerobă și carboxifilă. Monitorizarea pH-ului prin roșu fenol permite monitorizarea culturii. Cultivarea este lentă. Bulionul virează în domeniul acid (fermentează glucoza) abia după 2-3 zile de incubare la 37°C. Opacifierea mediului este redusă. Pe mediul agarizat formează microcolonii (250-300 nm) muriforme, granulare, a căror apariție o urmărim bisăptămânal la microscop.

Identificarea o facem pe baza caracterelor biochimice, a hemadsorbției pe suprafața coloniilor și inhibiția creșterii în prezența anticorpilor specifici.

(4) **Rezistența în mediul extern.** *Mycoplasma pneumoniae* este extrem de sensibilă la condițiile de mediu, în special căldură și desicare.

(5) **Structura antigenică.** Importanță au:

- Antigene proteice. Cel mai important este proteina P1, adezină dispusă în aglomerări, sub formă de bonetă, pe membrana citoplasmică a extremității formelor filamentoase.

- Un antigen glicolipidic, utilizat în reacția de fixare a complementului. Reacționează și cu anticorpi față de alte micoplasme.

- Determinanți antigenici comuni cu antigene tisulare umane din mușchi, creier, plămâni, de pe limfocite sau hematii.

(6) **Factori de virulență.** Adezina P1 se leagă de baza cililor celulelor epiteliale, putând duce în final la distrugerea celulelor epiteliale (CD 21-1).

Mycoplasma pneumoniae produce un inhibitor al catalazei care protejează peroxidul de hidrogen produs de micoplasmă și de celula gazdă. Urmează acumularea acestuia, ce accentuează efectul citotoxic al proteinei P1.

(7) **Patogenitate naturală și patogenie.** *Mycoplasma pneumoniae* este un patogen extracelular care aderă la epiteliul respirator prin intermediul proteinei P1. Aceasta interacționează specific cu receptorii glicoproteici de la baza cililor celulelor epiteliale (și de pe suprafața eritrocitelor), rezultând efecte citotoxice: ciliostază, cilionecroză și exfolierea celulelor epiteliale. Pierderea acestor celule interferează cu *clearance*-ul normal al căilor respiratorii superioare și permite contaminarea tractusului respirator inferior cu microorganisme și iritația mecanică. Acest proces este responsabil pentru tusea persistentă prezentă la pacienți cu infecție manifestă clinic.

Mycoplasma pneumoniae acționează ca superantigen, stimulând migrarea celulelor inflamatorii la locul infecției și eliberarea de citokine, inițial TNF- α (*tumor necrosis factor- α*) și IL-1 (interleukina-1), apoi IL-6. Acest proces contribuie la eliminarea bacteriilor. Stimulează limfocitele B și T și induce formarea de autoanticorpi care reacționează cu o varietate de antigene tisulare și cu antigenul I eritocitar, fenomen responsabil pentru producerea aglutininelor la rece.

Infecția rămâne superficială, *M. pneumoniae* nu invadează țesuturile, dar prin efecte citotoxice determină infiltrate limfo-plasmocitare peribronșice. Determină frecvent infecții respiratorii benigne: angine, traheobronșite. Forma clinică cea mai caracteristică, dar mai rară, este pneumonia atipică primară. Extinderea infecției în suprafață determină manifestări în sfera ORL, e.g., otită medie.

Complicații apar prin reacții de sensibilizare: anemie hemolitică, leziuni cutanate, miocardită, pericardită, complicații neurologice, pancreatice. Însăși pneumonia atipică ar putea fi expresia unei sensibilizări la antigenele micoplasmei.

(8) **Imunitatea.** Este tranzitorie, asigurată de anticorpi IgA secretori. Reinfecții sunt posibile deoarece imunitatea este incompletă.

(9) **Diagnosticul de laborator.**

Depistarea micoplasmei este puțin utilizată din cauza fragilității și creșterii ei lente.

Examinăm spălătura bronho-alveolară și periajul endobronșic. Exsudatul nasofaringian este un produs acceptabil. Expectoratia nu este utilă.

Microscopia nu dă rezultate: micoplasmele nu se colorează cu coloranți uzuali, iar colorația imunofluorescentă este insuficient de sensibilă.

Cultivarea. Produsele patologice trebuie inoculate pe mediile precizate mai sus, care devin selective după adaos de penicilină sau acetat de taliiu. *Mycoplasma pneumoniae* cultivă lent (5-21 zile). Metoda este relativ lipsită de sensibilitate și inaccesibilă majorității laboratoarelor clinice; un rezultat pozitiv are semnificație diagnostică.

Tehnici de biologie moleculară. Reacția de amplificare genică (PCR) și, în mai mică

măsură, sondele de acizi nucleici, reprezintă noi perspective de diagnostic direct.

Serologia este mai larg folosită. Depistarea anticorpilor specifici prin reacția de fixare a complementului (RFC) este o tehnică utilă, dar laborioasă. Anticorpii apar repede după debutul infecției, ating un maxim după 4 săptămâni și persistă timp de 6-12 luni. Certitudinea o dă seroconversia sau dinamica semnificativă a anticorpilor în seruri pereche (precoce și tardiv). Un titru de cel puțin 1/64 sugerează un diagnostic prezumtiv. Reacții fals-pozitive apar: la pacienți cu infecții produse de *M. genitalium* sau la pacienți cu meningită bacteriană, sifilis ori pancreatită.

Alte teste serologice (ELISA, imunfluorescență indirectă) sunt mai ușor de efectuat, permit diferențierea clasei de anticorpi, sunt mai sensibile și sunt actualmente mai utilizate decât RFC.

Testul aglutininelor la rece – anticorpi IgM care reacționează cu antigenul I de pe suprafața eritrocitelor umane la 4°C – are sensibilitate și specificitate modeste, de aceea nu mai este recomandat pentru diagnosticul infecțiilor cu *M. pneumoniae*.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Toate tulpinile sunt sensibile la macrolide și tetraciclone; rezistența la eritromicină este excepțională. Fluorochinolonele de ultimă generație sunt de asemenea utile.

(11) Epidemiologie. *Mycoplasma pneumoniae* produce infecții endemice, mai frecvente toamna și iarna, cu mici pusee epidemice la intervale de 4-8 ani. Mai afectați sunt copiii și adolescenții (5-15 ani). Multe infecții evoluează subclinic, de aceea incidența reală este greu de apreciat.

Infecția cu *M. pneumoniae* nu este deosebit de contagioasă prin secreții nasale și este necesar un contact strâns pentru transmiterea infecției.

(12) Profilaxie. Izolarea persoanelor infectate este impracticabilă deoarece pacienții sunt infecțioși mult timp, chiar și atunci când primesc antibioterapie adecvată. Vaccinuri inactivate sau vii atenuate s-au dovedit ineficiente.

21.2. MICOPLASMELE GENITALE

Ureaplasma urealyticum și *Mycoplasma genitalium* produc uretrite non-gonococice. *Ureaplasma urealyticum* este implicată și în etiologia sindromului uretral acut la femei. Infecția urinară cu aceeași bacterie poate determina formarea de calculi urinari ca urmare a alcalinizării urinei; ocazional se complică cu orhiepидidimită. *Mycoplasma hominis* determină pielonefrite acute, salpingite (mai rar, *M. genitalium*), septicemii după chirurgia organelor uro-genitale. *Ureaplasma urealyticum* și *M. hominis* produc bacteriemii *postpartum* sau *postabortum* și infecții neonatale (infecții pulmonare cronice, meningite). *Mycoplasma hominis* este frecvent implicată în dismicrobismul vaginozelor (☞ Capitolul 14.3.). Rar cauzează vaginite prepubertare.

Diagnosticul de laborator este exclusiv bacteriologic.

Mycoplasma hominis este o bacterie facultativ anaerobă, care metabolizează arginina, dar nu și glucoza. Cultura apare pe medii speciale îmbogățite, în 1-4 zile; coloniile au aspect de „ou prăjit”. Identificarea este făcută prin inhibarea creșterii cu antiseruri specifice.

Ureaplasma urealyticum crește pe medii cu uree. Formează colonii minuscule de 15-30 μm de asemenea cu aspect de „ou prăjit”. Moare repede după izolarea inițială.

Au semnificație clinică doar izolatele din prelevate necontaminate. Micoplasmele genitale pot fi implicate în etiologia infecțiilor urinare sau a uretritelor dacă sunt izolate în cantitate mai mare de 10⁴ unități de virare a pH-ului mediului de cultură/mL.

Elemente de terapie etiotropă. Pot fi utilizate tetraciclone sau macrolide. Tetraciclonele au avantajul de a fi active și împotriva altor micoplasme și a chlamidiilor, cauză

frecventă a uretritelor non-gonococice. Eritromicina este utilizată în tratamentul infecțiilor cu *U. urealyticum*, deoarece aceasta este rezistentă la tetracicline. *Mycoplasma hominis* este rezistentă la eritromicină și, ocazional, și la tetracicline; clindamicina și unele fluorochinolone pot fi utilizate împotriva acestor tulpini rezistente.

Profilaxie. Infecțiile cu *M. hominis*, *M. genitalium* și *Ureaplasma* sunt transmise prin contact sexual. De aceea, pot fi prevenite prin evitarea promiscuității sexuale sau folosirea barierelor mecanice adecvate.

21.3. MICOPLASMELE ȘI SIDA

Două specii de *Mycoplasma*, *M. fermentans* și *M. penetrans*, mult timp considerate comensale inofensive, au fost izolate cu frecvență semnificativă din situsuri normal sterile ale pacienților cu SIDA. *Mycoplasma fermentans* a fost depistată în diferite țesuturi imunohistologic, prin microscopie electronică, prin hibridare *in situ* sau amplificare genică. *Mycoplasma penetrans* este izolată mai frecvent din urina sidaticilor decât a persoanelor indemne de infecția cu HIV; există și probe serologice privind infecțiile cu *M. penetrans* la bolnavii cu SIDA.

DUMITRU BUIUC

In memoriam

Daniel Carrion, studentul care a demonstrat în 1885, cu prețul vieții, prin autoinoculare, filiația dintre febra de Oroya și verruga peruviană.

Minidefiniție. Genul *Bartonella* (diminutiv derivat prin sufixul *-ella*, de la numele lui A. L. Barton, care a descris în 1909 prima specie a genului) reunește bacili mici gram-negativi, aerobi și carboxifili. Cresc relativ lent numai pe medii special îmbogățite cu sânge. Fixează greu coloranții de anilină și au metabolism redus.

Dintre cele 13 specii cunoscute în prezent, numai patru sunt cu interes medical: *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. henselae* și *B. elizabethae*.

Habitat. *Bartonella bacilliformis* are circulație limitată în Munții Anzi, din Chile până în Columbia, la altitudini de 600-2400 m unde trăiește vectorul său: flebotomul *Lutzomia verrucarum*. *Bartonella quintana*, găzduită de om, și *B. henselae*, găzduită de pisici, au răspândire mondială. Habitatul celei de a patra specii, *B. elizabethae*, este necunoscut.

Microscopic, pe frotiuri colorate Giemsa ori prin impregnație argentică, bartonelele apar ca minusculi bacili. *Bartonella quintana* și *B. henselae* sunt ușor mai mari (0,5/1-2 μm) și sunt frecvent încurbate asemănător campilobacteriilor. La examenul direct toate speciile pot fi observate în citoplasma celulelor endoteliale din splină, ficat, ganglionii limfatici sau leziunile cutanate. *Bartonella bacilliformis* apare, în stadiul acut al infecției, și intraeritocitar.

Caractere de cultivare. *Bartonella bacilliformis* cultivă optim la 25°C și formează, după 4-5 zile de incubare, fie colonii minuscule transparente și mucoide, fie un film mucoid opac. *Bartonella quintana* și *B. henselae*, specii mai fastidioase, cultivă optim la 35°C și formează abia după 5-49 zile colonii mici; uneori primocultura acestor specii apare numai după cocultivarea probelor tisulare în culturi de celule endoteliale.

Caracterele biochimice nu sunt uzual studiate; cele mai multe sunt negative.

Patogenitatea naturală și patogeneza. Bartonelele au în comun: • Tropismul pentru endoteliul vascular; • Potențialul angiogenetic; • Capacitatea de a determina infecții care evoluează spre cronicizare sau latență; • Patomorfoza remarcabilă a bolilor cauzate.

(i) *Infecții la gazde normoreactive:*

Bartonella bacilliformis, transmisă interuman de flebotomul *Lutzomia verrucarum*, determină o infecție cu două stadii evolutive individualizate ca boli aparte:

- Febra de Oroya, caracterizată printr-un sindrom acut, febril, hemolitic, cu mortalitate până la 40 %;
- Verruga peruviană care evoluează, subacut sau cronic, cu elemente eruptive cutanate de angiogenează asemănătoare negilor.

Bartonella henselae este transmisă de la pisici prin mușcătură, zgârieturi, purici sau căpușe. Determină „boala zgârieturii de pisică” manifestată, după o incubajie de cca două săptămâni, prin febră moderată, papulă sau pustulă la poarta de intrare, adenită regională

uneori supurată. Evoluția bacteriemică însoțită de meningită aseptică este posibilă.

Bartonella quintana este transmisă interuman prin păduchi, alte artropode hematofage sau *Sarcoptes scabiei*. Gratajul este cel care inoculează eficient bacteria din excrementele artropodului vector. După o incubatie de 5-30 zile, boala evoluează benign cu accese febrile care se repetă la intervale de cinci zile, dureri cu variate localizări, mai ales tibiale, splenomegalie moderată și, uneori, exantem maculo-papular. Infecția latentă cu recidive la mulți ani după infecția primară este posibilă. Este una dintre bolile cu cele mai variate denumiri: unele inspirate din simptomatologia clinică (febra de cinci zile sau quintană, febra tibialgică), altele din circumstanțele epidemiologice (febra de tranșee, febra de Wolhinia, febra poloneză, febra rusească – referiri la evoluția epidemică a bolii în condițiile primului război mondial). Rar, *B. quintana* determină un sindrom asemănător bolii zgârieturii de pisică.

Bartonella elizabethae a fost izolată de la un pacient cu bacteriemie și endocardită cu sursă de infecție necunoscută.

(ii) *Infecția gazdelor imunocompromise*. În angiomatoza și pelioza bacilară la pacienți cu SIDA, prin reacția de amplificare genică (PCR) și analiza secvențială a ADN direct în probe tisulare, au fost identificate organisme similare cu *B. quintana* sau *B. henselae*. *Angiomatoza bacilară* constă în leziuni de vasoneoformație și inflamatorii ale pielii, țesutului subcutanat, ficatului, splinei și ocazional ale conjunctivei, traheei, bronșiilor sau creierului. În *pelioza bacilară* pacienții au leziuni de vasoneoformație hepatică și splenică particularizate prin formațiuni chistice, pline cu sânge, cuprinse într-o matrice fibro-mixoidă care conține bartonele.

La alcoolici *B. quintana* poate determina boală febrilă, bacteriemii și endocardite, iar la cei cu angiomatoză bacilară cutanată determină, în plus, și limfadenopatii cronice.

Diagnosticul de laborator. Investigația de laborator și nivelul până la care identificăm organismele depistate depind de circumstanțele clinico-epidemiologice și gravitatea sindromului. În zona andină forma clasică a febrei de Oroya și a verrugii peruvienne sunt ușor recunoscute clinic. La fel febra tibialgică/quintană în endemie de pediculoză ori boala zgârieturii de pisică.

Formele atipice ori în afara condițiilor epidemiologice sugestive trebuie investigate prin laborator. Examinăm, după caz, sânge, biopsii cutanate, ganglionare limfatice, puroi.

Hemoculturile prin metoda liză plus centrifugare, singurele cu sensibilitate satisfăcătoare, sunt indicate în formele grave și în cazul endocarditelor cu hemoculturile uzuale negative la pacienți cu deficite imune sau alcoolici. Hemoculturile trebuie urmărite cel puțin trei săptămâni.

La examinarea biopsiilor cutanate următoarele rezultate preliminare indică necesitatea examinării probelor în condiții speciale: • circumstanțele clinico-epidemiologice; • bacterioscopia negativă pe frotiul colorat Gram; • absența bacteriilor cultivabile prin metode uzuale. Este puternic sugestivă prezența pe preparatele histopatologice a leziunilor granulomatoase de mici bacili depistați prin impregnație argentică.

Pentru izolare, prelevatele sunt epuizate pe plăci cu agar-sânge proaspăt turnate și incubate în atmosferă cu 10% CO₂. Culturile trebuie urmărite cel puțin trei săptămâni. În sindroamele benigne, ca boala zgârieturii de pisică, cheltuielile legate de cultivare nu sunt justificate.

Diagnosticul infecțiilor determinate de *B. henselae* este posibil și prin imunofluorescență indirectă. Titrul de 1/64 este sugestiv; certitudinea o dă dinamica semnificativă a anticorpilor. O i.d.r. pozitivă la antigenul extras din *B. henselae* poate fi criteriu diagnostic.

Elemente de terapie etiotropă. Sunt indicate eritromicina sau doxiciclina (în cazurile grave asociate cu gentamicina).

DUMITRU BUIUC

In memoriam

Cei răpuși de tifos exantematic pe câmpul de onoare
 Savanți care studiau boala:
 Howard Taylor Ricketts, războiul din Mexic 1911;
 Stanislas von Prowazek, războiul din Serbia 1914;
 Zeci de mii de ostași și 350 de medici români, Moldova 1917;
 Personalul medical francez din spitalul de campanie
 de la Vila Greerul, Iași 1917.

„Tifosul nu este mort, iar evadarea sa din «grădinile
 zoologice» ale bolilor controlate poate fi oricând posibilă,
 atâta timp cât sursele de infecție există, vectorul nu a fost
 suprimat, iar **erorile umane** vor oferi condițiile favorabile
 unei noi epidemii.”

H. ZINSSER, 1935

Minidefiniții. Familia *Rickettsiaceae* (de la numele lui H. T. Ricketts, primul care a asociat două dintre aceste organisme cu febra pătată a Munților Stâncuși, 1906-1909, și respectiv cu tifosul exantematic, 1911) reunește mici bacterii pleomorfe (bacili, cocobacili) cu perete de tip gram-negativ, care se înmulțesc prin diviziune, obligat intracelular la vertebrate sau artropode. Pot fi observate microscopic prin colorații speciale: Gimenez ori Machiavello. Fiind organisme slab acido-rezistente, rezistă la decolorarea cu soluții tamponate (colorația Gimenez) ori acizi organici slabi (colorația Machiavello) încât apar colorate în roșu cu fucsină pe fondul frotiului recolorat în verde și respectiv în albastru. Unele specii sunt găzduite numai de artropode ca organisme parazite sau mutualiste. Nu pot fosforila glucoza și generează ATP prin oxidarea glutamatului. De aceea cultivă numai în gazde vii: animale de laborator, sacul vitelin al embrionului de găină, culturi de celule. Temperatura optimă de cultivare în sacul vitelin este de 32°C. Cu creșterea temperaturii rata multiplicării scade. Gazde mai sensibile pentru izolare sunt, în funcție de specie, cobaiul și șoarecele. Creșterea rickettsiaceelor este stimulată de sulfamide, iar sulfamidele agravează evoluția rickettsiozelor.

Funcție de multiplicarea în celula gazdă și stabilitatea în mediul extern, au fost definite trei genuri: *Rickettsia*, *Coxiella* și *Ehrlichia*.

Rickettsia trec repede din fagosom în citoplasmă unde se înmulțesc. Unele invadează și se înmulțesc în nucleu. Foarte fragile în mediul extern, s-au adaptat la transmiterea prin vectori biologici.

Coxiella supraviețuiește și crește în fagolizosom. Formează endospori prin care este foarte stabilă în mediul extern încât se transmite primar prin aerosoli sau pulberi contaminate și numai secundar prin căpușe.

Ehrlichia previn fuzionarea fagosomului cu lizosomii și se înmulțesc în mediul protector al fagosomilor sub formă de aglomerări muriforme numite morule, care sunt observate la microscop ca incluziuni citoplasmice. Foarte fragile în mediul extern, se transmit numai prin vectori biologici.

23.1. GENUL *RICKETTSIA*

Caracterele biologice (localizare în celula gazdă, structura antigenică) coroborate cu cele clinico-epidemiologice ale infecțiilor determinate împart speciile de *Rickettsia* în trei

biogrupuri: al tifosului, al febrei pătate și al tifosului de lăstăriș (tabelul 23-1).

Rickettsiile grupurilor tifos și tifos de lăstăriș cultivă în citoplasmă, mai ales perinuclear, iar cele ale grupului febrei pătate cultivă preferențial intranuclear.

Structura parietală și antigenică. Rickettsiile tifosului și febrei pătate au peretele format din peptidoglican, membrană externă, lipopolizaharid și o microcapsulă cu două proteine multimerice care îi dau aspect cristalin. Au un antigen solubil, extras prin eter, specific de grup, și un antigen corpuscular specific de specie. Lipopolizaharidul rickettsian dă reacții încrucișate cu serovarurile 1-3 de *Proteus vulgaris*: tulpinile *Proteus* OX 19 (grupul tifos) și *Proteus* OX 2 (grupul febrei pătate).

Singură *R. tsutsugamushi* este lipsită de peptidoglican, de LPS și de microcapsula cristalină și nu reacționează încrucișat cu *Proteus* OX 19 sau OX 2, ci doar inconstant cu *Proteus* OX K. De aceea pentru *R. tsutsugamushi* a fost creat noul gen *Orientia* cu o singură specie: *O. tsutsugamushi*.

Factori de virulență. Rickettsiile nu elaborează exotoxine și au LPS cu slabă activitate endotoxinică, iar la *O. tsutsugamushi* LPS lipsește complet. Principalul factor de virulență al rickettsiilor este capacitatea de a se fixa, de a invada și de a se multiplica în celulele endoteliale. Acumulate intracelular inhibă activitatea enzimelor cheie pentru protecția celulară față de explozia respiratorie: catalaza, glucozo-6-fosfatdehidrogenaza, glutatión peroxidaza. Rezultă nivele crescute ale radicalilor de oxigen care peroxidează lipidele membranare. Leziunile celulelor endoteliale și a musculaturii netede subjacente inițiază lanțul patogenic al rickettsiozelor.

Patogenitatea naturală și patogenie. Rickettsiozele sunt transmise prin înțepătura vectorilor, prin gratajul tegumentului contaminat cu fecalele păduchilor sau puricilor infectați și, rar, prin inhalarea aerosolilor rezultați din fecalele acestor vectori. Infecția endoteliului capilar de la poarta de intrare se extinde centripet și invadează arteriolele și venulele dermului, pulmonilor, inimii, creierului, rinichilor, ficatului și tubului digestiv. Leziunea caracteristică este o *endotelită trombozantă cu inflamație periadventițială a vaselor mici*, care formează *nodulii lui Frankel*. Trombocitele atașate la endoteliile infectate generează trombi fibrinoplachetari care, rar, pot obstrua vasele cu necroză ischemică. Leucocitele polimorfonucleare, limfocitele, plasmocitele și macrofagele înconjură vasele sanguine lezate. Gravă este necroza și tumefierea endoteliului, care cresc permeabilitatea vasculară și determină:

- Extravazarea sângelui prin microcirculație cu apariția erupției caracteristice, ca aspect și localizări, diferitelor boli rickettsiene: în tifosul exantematic, murin sau de lăstăriș erupție maculară sau maculopapulară limitată la trunchi cu eventuală extindere spre membre, dar fără afectarea feței, palmelor și plantelor; în febrele pătate erupție peteșială generalizată. Între febrele pătate, febra butonoasă este particularizată prin apariția frecventă la locul înțepăturii de căpușă a unei escare cu diametrul de cca un cm.

- Pierderea în interstițiu a plasmiei și a electroliților cu hipotensiune și șoc în cazurile grave.

Funcție de extinderea afectării vasculare apar diferitele forme clinice dominate de miocardită, meningoencefalită, pneumonie interstițială, necroze focale renale sau hepatice.

Mortalitatea prin rickettsioze este mare, mai ales după vârsta de 45 ani. În epidemiile de tifos exantematic a variat între 1% la grupele de vârstă 0-12 ani până la 55% la grupa 45-60 ani.

Imunitatea antirickettsiană este celulară și menținută numai de infecția latentă, care ocazional se reactivează. Așa este tifosul exantematic de recădere, numit boala lui Brill-Zinsser, care evoluează fără exantem și cu rickettsiemie mai discretă. Aceste recăderi pot să apară și după 50 ani de la infecția primară.

Diagnosticul de laborator. Diagnosticul de rickettsioză poate fi sugerat de circumstanțele clinico-epidemiologice. Frecvent însă, în cazurile sporadice, simptomatologia clinică este nespecifică încât laboratorul trebuie să confirme diagnosticul. Dar și izolarea și serologia dau rezultate prea tardive pentru a influența tratamentul etiotrop, care trebuie inițiat cât mai precoce.

Depistarea rapidă a rickettsiilor în biopsii cutanate din peteșii sau macule prin tehnici cu anticorpi marcați are sensibilitate și specificitate nesatisfăcătoare. Tehnici promițătoare, dar care nu au depășit stadiul cercetării, sunt: urmărirea rickettsiilor în sânge prin colorația imunofluorescentă a celulelor endoteliale infectate capturate și concentrate pe particule magnetice coafate cu anticorpi.

Izolarea rickettsiilor este posibilă din sânge sau cheag sanguin recoltat *intravital* sau din probe necropsice (de preferat din splină și pulmoni, dar pot fi examinate și probe de cord, ficat sau rinichi). Dacă nu sunt examinate imediat, toate probele trebuie congelate la temperaturi sub -20°C . Gazdele de laborator mai sensibile pentru izolarea rickettsiilor sunt cobaii și șoarecii injectați intraperitoneal cu omogenatul de cheag sanguin sau tisular. Numai injectarea cobailor masculi permite urmărirea leziunilor scrotale caracteristice (tabelul 23-1). Animalele care fac eventuală infecție inaparentă sau simplă reacție febrilă pasageră sunt testate pentru apariția anticorpilor folosind tulpini de colecție. Izolarea prin inoculare în sacul vitelin al embrionului de găină sau în culturi de celule este mai puțin sensibilă. Izolarea și identificarea rickettsiilor sunt tehnici laborioase și periculoase rezervate strict laboratoarelor specializate dotate cu facilități de maximă siguranță antiepidemică și personal special instruit.

Diagnosticul serologic este cel accesibil laboratorului clinic. Reacția Weil-Felix de aglutinare a suspensiilor de *Proteus* OX, dependentă de anticorpi IgM, se pozitivează numai în primoinfecții, este prea puțin sensibilă și specifică. A rămas numai cu valoare istorică.

- Reacția de imunofluorescență este economică, diferențiază anticorpii IgM (după 6-10 zile până la 10 săptămâni de la debutul bolii) și IgG (între 2-3 săptămâni și un an după debutul bolii). Este ușor accesibilă, relativ sensibilă, dar subiectivă în stabilirea titrului.

- ELISA depistează și cantifică sensibil anticorpii IgM, dar este mai puțin accesibilă.

- Reacția de hemaglutinare pasivă (RHAP) este foarte sensibilă, iar anticorpii hemaglutinanți ajung la titruri nesemnificative (sub 1:1000) după trei luni de la debutul bolii. Aceasta face din RHAP testul de elecție pentru serodiagnosticul bolii Brill-Zinsser. Latexaglutinarea are aceleași calități ca și RHAP.

Reacția clasică de fixare a complementului este cea mai specifică, dar și cea mai puțin sensibilă. Anticorpii sunt depistați după 3-4 săptămâni și persistă peste un an. De aceea, spre deosebire de celelalte reacții, nu diferențiază satisfăcător tifosul de primoinfecție de boala Brill-Zinsser.

Elemente de terapie etiotropă. Antibioticul de elecție este doxiciclina, iar alternativ cloramfenicolul (rezervat numai pentru boala gravidelor și copiilor sub vârsta de opt ani).

Epidemiologie. Rezervorul de infecție și vectorii rickettsiozelor sunt prezentați în tabelul 23-1.

Dintre rickettsioze, România a fost confruntată cu epidemii de tifos exantematic și, la granița de sud, cu cazuri sporadice de febră butonoasă.

Tifosul exantematic este o boală a mizeriei sociale, iar izbucnirile epidemice sunt legate de catastrofe umanitare. Nu cunosc o descriere mai convingătoare a epidemiologiei tifosului exantematic decât cea făcută de Profesorul Ioan Cantacuzino: „În România, înainte de războiul din 1916, tifosul exantematic era aproape neștiut. Mici focare fuseseră semnalate, din când în când, la răstimpuri foarte lungi, mai cu osebire printre Țigarii din marginea Bucureștilor... Apoi n-au mai fost semnalate alte cazuri până în momentul în care... armata română s-a retras în Moldova pe un frig năprasnic; acolo, în satele Moldovei, învălmășeala a ajuns într-atât de mare, pe urma afluxului de trupe sleite și a exodului populației

Tabelul 23-1 Caractere ale speciilor de *Rickettsia* patogene pentru om

Biogrup și specie	Boli	Rezervor de infecție	Răspândire	Transmiterea la om	Izolarea și boala experimentală
Tifos					
<i>R. prowazekii</i>	Tifos epidemic	Uman	Cosmopolită; colectivități infestate cu păduchi	Fecalele păduchilor infectați	
	Tifos de recădere: boala Brill-Zinsser	Uman	Cosmopolită	Reactivarea infecției latente	Cobai: febră
	Tifos silvatic	Veverița zburătoare (<i>Glaucomys volans</i>)	S.U.A.	Contact cu veverițe zburătoare	
<i>R. typhi</i> (<i>R. mooseri</i>)	Tifos endemic (murin)	Șobolanii <i>Rattus</i>	Cosmopolită; colectivități infestate cu șobolani	Fecalele puricilor infectați	Cobai: inflamație scrotală
Febre pătate					
<i>R. rickettsii</i>	Febra pătată a Munților Stâncoși	Căpușe, mici mamifere	Emisfera vestică	Înțepătura de căpușe	Cobai: leziuni scrotale (peteșii, ulceratii, necroză)
<i>R. conorii</i>	Febra butonoasă	Căpușe, mici mamifere, câine	Litoralul mediteranean, părți din Europa, Africa, India	Înțepătura căpușelor: <i>Rhipicephalus</i> , <i>Haemaphysalis</i>	Cobai: inflamație scrotală
<i>R. sibirica</i>	Tifosul de căpușă nord-asiatic	Căpușe, mici mamifere	Siberia, Mongolia, părți din Europa de est	Înțepătura de căpușe	Cobai: inflamație scrotală
<i>R. australis</i>	Tifosul de căpușă din Queensland	Căpușe, mamifere	Australia	Înțepătura de căpușe	Șoarece nou născut
<i>R. japonica</i>	Febra pătată orientală	Căpușe, mici mamifere	Japonia	Înțepătura de căpușe	Cobai: febră
<i>R. akarii</i>	Rickettsioza variceliformă	Șoareci, acarien	S.U.A., Rusia, Coreea	Înțepătura gamasidului <i>Allodermomyssus sanguineus</i>	Cobai: inflamație scrotală. Șoarece: splenomegalie, ascită, deces.
Tifos de lăstăriș					
<i>R. tsutsugamushi</i> ¹⁾	Tifos de lăstăriș	Trombiculide, rozătoare sălbatice microtine	Asia, Australia, Oceania	Înțepătura larvelor de trombiculide	Șoarece: splenomegalie, ascită, deces

¹⁾ Recent reclasificată ca *Orientia tsutsugamushi* (vezi textul).

civile...încât tifosul exantematic și-a găsit împlinite dintr'odată împrejurările cele mai prielnice pentru întinderea lui; în localitățile în care cantonau regimentele, nu arareori puteai vedea 25-30 de oameni înghesuiți într-o odăiță țărănească. Promiscuitatea era înfricoșătoare, iar puțința de îngrijire a corpului era nulă...

Cine ar putea uita tabloul pe care îl prezentau gara Iașilor și mahalalele lui, în Februarie 1917?...refugiați de tot felul năpădeau de pretutindeni... albiți de păduchi, ei împrăstiau în calea lor boala; unii dintre ei cădeau morți în drum, alții în clipa sosirii lor; zilnic pe peroanele gărilor, pe șoselele dintre orașe, la ușile spitalelor ticsite de bolnavi stăteau mormane de cadavre îngrămădite cu sutele, unele peste altele; mai prin toate părțile, medicii și infirmierii, cădeau atinși de molimă; nu mai erau nici scânduri pentru sicrie, iar căruțele târâte de cai ca umbre, purtau cadavrele trântite grămadă;..." (J. Cantacuzène: *L'épidémie de typhus exanthématique en Roumanie pendant la dernière guerre – Société de Pathologie Exotique, Paris, séance de mars 1920*, perioada când, ca prim delegat al României, Ioan Cantacuzino pregătea semnarea tratatului de pace de la Trianon).

Combaterea și profilaxia rickettsiozelor. Diferențiem situația tifosului exantematic de cea a rickettsiozelor transmise prin căpușe sau trombiculide.

(i) *Cazul tifosului exantematic.* Ideal trebuie să primeze măsurile de igienă personală și colectivă care întrerup ciclul biologic al păduchilor. Dezinsecția chimică este numai un adjuvant pentru situații speciale din focare epidemice.

Ciclul biologic al păduchilor și transmiterea bolii. O femelă de păduche depune în cele două luni de viață cca 120 ouă (var. *capitis* fixate pe păr ca „lindeni”, var. *corporis* lipite de părțile rugoase ale îmbrăcăminteii, cu predilecție la cutele cusăturilor). La 32-35°C (temperatura lenjeriei purtate continuu) larvele eclozează în șase zile; la 25-30°C, după 8-10 zile; sub 22°C embrionul nu se dezvoltă. După triplă năpârlire, în nouă zile de la eclozare, larvele se maturează și la 10 ore după a treia năpârlire se împerechează. Ciclul evolutiv durează astfel, în medie, 20 zile. O singură femelă dă naștere în cele trei cicluri pe care le generează cca 4000-5000 descendenți. Așadar tunderea, bărbierirea, schimbarea, spălarea și fierberea rufăriei de corp la maximum 14 zile întrerupe ciclul evolutiv. Hainele sunt despăducheate în etuve.

După 4-6 ore de la prânzul sanguin infectant păduchii se îmbolnăvesc și transmit boala 14 zile cât supraviețuiesc. În tifosul primar, când rickettsiemia este masivă, un singur prânz poate infecta păduchele. În tifosul de recădere, deși rickettsiemia este moderată, în condițiile unei pediculoze masive, dat fiind numărul mare de prânzuri sanguine, cel puțin un păduche se infectează și transmite boala.

Despăducherea chimică (prin malation și alți compuși) poate da rezultate în situații de urgență. Impregnarea cu repelenți a hainelor personalului care acționează în focar dublată de o îngrijită igienă personală sunt necesare.

A crede că insecticidele rezolvă combaterea infecțiilor transmise prin păduchi, fără măsuri de educație sanitară, de igienă colectivă și personală, este o prostie costisitoare și periculoasă. Păduchii dezvoltă rezistență la insecticide și înaintea oricărei dezinsecții trebuie testată sensibilitatea păduchilor proprii focarului vizat.

(ii) *Cazul rickettsiozelor transmise prin căpușe, trombiculide ori purici.* Trebuie evitat contactul cu focarele naturale în care conviețuiesc mamiferele gazdă și vectorii. Deratizarea este esențială pentru profilaxia tifosului murin și rickettsiozei variceliforme (capcane, rodenticide, dar mai ales oprirea accesului la sursele de hrană). Programul trebuie dublat cu dezinsecție pentru că ectoparaziții animalelor moarte abandonează cadavrele și infestază omul. Când activități umane sunt impuse în focare naturale de rickettsioză controlul exhaustiv al vectorilor pe arii extinse este prohibitiv (defrișări, tratarea vegetației restante cu insecticide organofosfate, organoclorinate, carbamați). Pentru activități limitate sunt mai indicate impregnarea hainelor cu repelenți (e.g., dietiltoluamidă), uniforme de culoare deschisă pentru a sesiza mai ușor căpușele, controlul frecvent al

tegumentelor pentru îndepărtarea căpușelor care au înțepat (tracțiune ușoară, persistentă, cu pensă curbă) și antiseptizarea îngrijită a locului prin spălare cu apă și săpun.

Vaccinul antitific atenuat (tulpina Madrid – E de *R. prowazekii*) nu mai este disponibil după cazurile de reversie spontană la virulență.

23.2. GENUL *COXIELLA*

Coxiella burnetii este singura specie a genului. Numele genului este diminutivul, derivat prin sufixul *-ella*, de la H.R.Cox, care a izolat în S.U.A. acest organism și l-a cultivat în sacul vitelin al embrionului de găină, cel al speciei de la F.Mac Farlane Burnet, cel care, scurt timp înainte, descoperise organismul în Australia. Are răspândire cosmopolită. Este găzduită de variate căpușe, animale sălbatice și, mai ales, domestice.

Cultivă pe aceleași gazde de laborator ca și *Rickettsia*. Spre deosebire de toate celelalte rickettsii, subcultivată în sacul vitelin al embrionului de găină suferă o variație de fază analoagă variației S→R a bacteriilor gram-negative. Tulpinile recent izolate de la gazde naturale sunt în faza I, care exprimă integral polimerul zaharidic distal al LPS și este virulentă. Prin subcultivare este selectată faza II în care organismele pierd din virulență odată cu polizaharidul distal și pot reține doar lipidul A cu KDO.

Omul contractează infecția prin inhalare de aerosoli sau pulberi contaminate cu *C. burnetii*, iar ocazional prin consum de lapte proaspăt nefiert. Fagocitoza pasivă ca și legarea proteinei C reactive, a componentelor complementului și imunoglobulinelor normale facilitează penetrarea intracelulară urmată de înmulțirea coxielilor în fagolizosomi și difuziunea în organism. Infecția poate evolua inaparent sau cu manifestări variate când este numită generic febră Q (de la engl. *query*: întrebare; boală cu etiologie inițial necunoscută). Majoritatea infecțiilor evoluează acut ca pneumonii interstițiale însoțite adesea de hepato- și splenomegalie (tifos pulmonar). Există însă diferențe ale simptomatologiei de la o țară la alta, în funcție de tulpinile circulante: simplă boală febrilă cu alură gripală, hepatită, encefalită. Contrar a ceea ce era afirmat în trecut, există rar și cazuri care evoluează cu exantem maculopapular ori peteșial. La un număr redus de pacienți febra Q se cronicizează și persistă luni sau ani. Aproximativ o treime din pacienții cu febră Q cronicizată fac localizări endocardice, favorizate de leziuni valvulare preexistente. Mortalitatea în febra Q este redusă: sub 1%.

Imunitatea după infecție este eficientă și de durată. Contribuie atât mecanismele imunității celulare, cât și citotoxicitatea celulară anticorp dependentă.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor cu *C. burnetii* îl facem prin aceleași metode directe (rezervate laboratoarelor de referință) sau serologice (uzuale) ca și în alte rickettsioze. Curent folosim antigenul în faza II. Endocardita cu *C. burnetii* trebuie suspectată, în context clinico-epidemiologic, la pacienți cu hemoculturi repetat negative și titruri peste 1:200 în microaglutinarea cu suspensie de *Coxiella* în fază I.

Formele ușoare de febră Q se vindecă spontan. Pentru tratamentul formelor manifeste administrăm 2-3 săptămâni tetraciclină asociată, în formele grave, cu alt antibiotic, ca rifampicina. Asociația sulfametoxazol-trimetoprim este de asemenea eficientă. În formele cronice tratamentul trebuie prelungit pentru a preveni recurențele.

La animalele domestice febra Q este enzootică. *Coxiella burnetii* se multiplică masiv în placentă și este diseminată în cursul parturirii, apoi prin laptele animalelor infectate. Transmiterea prin căpușe este posibilă la animale, dar excepțională la om. Boala apare sporadic sau în izbucniri epidemice la îngrijitorii de animale, veterinari, lucrători din abatoare.

Personalul expus la riscul infecției poate fi vaccinat. Vaccinul corpuscular inactivat determină uneori incidente la persoanele sensibilizate (abcese sterile care impun excizie chirurgicală). De aceea trebuie administrat numai după prealabilă testare intradermică. Vaccinul cu componente antigenice purificate este eficient și lipsit de riscuri.

23.3. GENUL EHRLICHIA

Majoritatea speciilor de *Ehrlichia* (nume în memoria bacteriologului german P. Ehrlich) sunt patogene ale animalelor, dar câteva specii pot îmbolnăvi omul. *Ehrlichia senetsu*, care circulă în Extremul Orient, și *E. chaffeensis*, izolată în S.U.A., Europa (Portugalia, Spania) și Africa (Mali), infectează cu precădere monocitele și determină un sindrom clinic asemănător cu febra pătată a Munților Stâncoși (frisoane, febră, cefalee, astenie, mialgii, grețuri, vărsături, trombocitopenie), rar însoțit de exantem maculo-papular. Întâlnite în ehrlichioze, dar absente în febrele pătate, sunt leucopenia și anemia. Unii pacienți au limfadenopatii cu proporție crescută de monocite și limfocite atipice în sângele periferic. Infecțiile pot fi asimptomatice până la severe cu mortalitate de 2-5%.

O a treia specie de *Ehrlichia*, nenumită încă, determină *ehrlichioza umană granulocitară* (EUG) cu manifestări clinice mai grave decât infecția cu *E. chaffeensis* (mortalitate de 7-10%) și localizarea bacteriei în leucocitele polimorfonucleare.

Diagnosticul poate fi încercat prin detectarea morulelor în leucocitele sângelui periferic, dar tehnica este prea laborioasă și insuficient de sensibilă. Uzual este urmărită dinamica semnificativă a anticorpilor prin imunfluorescență indirectă.

Pentru tratamentul ehrlichiozelor sunt indicate tetraciclinele.

Ariile de răspândire a ehrlichiozelor umane sunt încă studiate. Rezervorul de infecție pentru *E. chaffeensis* în S.U.A. este căprioara cu coadă albă, iar vector căpușa *Amblyoma americanum*. Vectorii identificați pentru EUG sunt *Ixodes scapularis* și *Dermacentor variabilis*. O ehrlichie probabil identică cu EUG a fost izolată de la câini în S.U.A. și de la câini și cai în Suedia.

„În preparatele colorate Giemsa s-au observat în celulele epiteliale lângă nucleu, în protoplasma albastră deschis incluzii albastre închise, neomogene, neregulate (au fost mai întâi observate de Prowazek). Aceste înmagazinări mai întâi mici, rotunde sau ovale, devin treptat mai mari, iau un aspect de dudă și suferă cu creșterea progresivă o mărire crescândă care începe în centru. Ca urmare se așează mai mult sub formă de glugă pe nucleu. Apoi apar în interiorul acestor incluzii corpusculi colorabili în roșu distinct foarte fine, care se înmulțesc rapid, iar masele colorate în albastru treptat dispar.”

L. HALBERSTAEDTER, 1912

În 1907 Halberstaeder și von Prowazek au transmis experimental trachomul de la om la urangutani. Atunci au observat pe frotiurile din raclatul conjunctival colorate Giemsa incluziuni citoplasmice care conțineau, într-o matrice albastră, corpusculi. Au considerat acești corpusculi cauză a trahomului și i-au numit *Chlamydozoa* (gr. *chlamys*, o mantie, referire la matricea colorată din jurul corpusculilor; gr. *zoon* animal; microorganism inclus inițial între protozoare).

Minidefiniție. Chlamidiile sunt minuscule bacterii cocoide, imobile, atât de adaptate la parazitismul intracelular încât au devenit total dependente energetic de gazdă. Incapabile să genereze ATP, le putem numi paraziți energetici. Au un ciclu particular de reproducere (fig. 24-1).

Ciclul reproductiv al chlamidiilor (fig.24-1). Corpii elementari, forma extracelulară infecțioasă a chlamidiilor, au aspect cocoid, diametrul de cca. 300 nm și perete rigid multilaminat. După fixarea pe receptorii specifici ai celulei gazdă, corpul elementar (CE) este fagocitat și, în vacuola de fagocitoză, evoluează în corp reticulat (CR), forma vegetativă neinfecțioasă a chlamidiilor, celulă sferică cu diametrul de 0,8-1,5 μm delimitată de perete mai fin decât cel al CE. Prin diviziuni repetate, CR formează o microcolonie sau incluziune cuprinsă în interiorul vacuolei de fagocitoză. Acumulați în microcolonii, CR se maturează și se transformă în CE. La capătul unui ciclu, care durează 24-48 ore, celula gazdă este lizată, cu eliberarea a numeroși corpi elementari infecțioși.

Parazitismul strict intracelular al chlamidiilor are trei consecințe de reținut:

(i) Pe plan patogenetic: coexistența infecției cronice latente cu fenomene de sensibilizare de tip IV.

(ii) Pe plan diagnostic: chlamidiile cultivă numai în sacul vitelin al embrionului de găină sau în culturi de celule.

(iii) Pe plan terapeutic: necesitatea antibioticelor cu bună penetrare intracelulară.

Cele mai multe chlamidii cultivă în culturi de celule numai în condiții speciale care facilitează inițierea infecției și înmulțirea:

- reducerea încărcăturii electronegative a suprafeței celulare prin policationi;
- centrifugarea inoculului pe filmul celular;
- creșterea receptivității celulelor prin pretratare cu inhibitori metabolici ca idoxuridină, cicloheximidă ș.a.

Lipopolizaharidul chlamidiilor este antigen fixator de complement comun tuturor speciilor. Proteina majoră a membranei externe conține antigene specifice de specie și serovar.

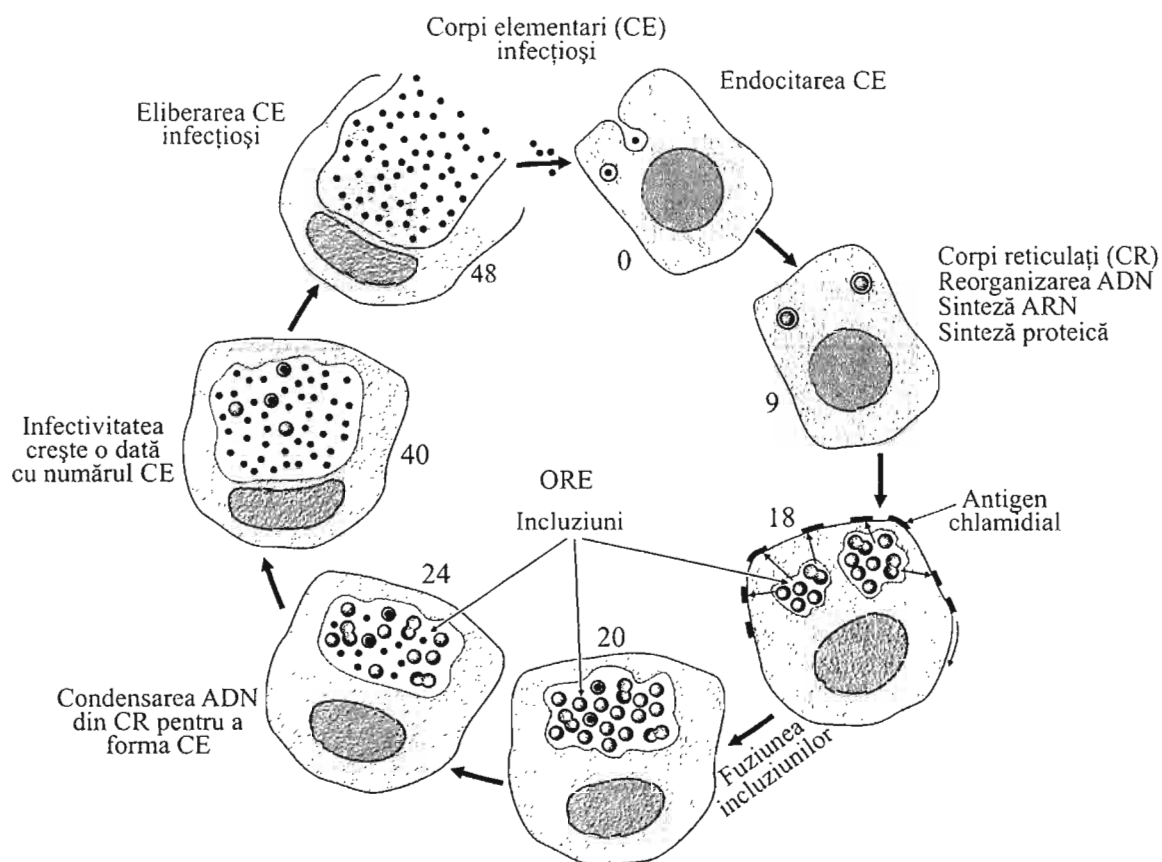


Fig. 24-1 Ciclul de multiplicare a chlamidiilor

Familia *Chlamydiaceae* are două genuri cu patru specii, dintre care trei sunt cu interes medical: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila psittaci*.

24.1. GENUL *CHLAMYDIA*

(1) **Habitat.** *Chlamydia trachomatis*, singura specie a genului, este găzduită de om, șoareci și porci. Ne interesează numai serovarurile umane.

(2) **Caractere microscopice.** Matricea incluziunilor acestei specii este iodofilă, de aceea pot fi observate în preparate umede colorate cu Lugol, dar sensibilitatea metodei este redusă. Curent recomandată este colorația Giemsa în care incluziunile tinere (predominanța corpilor reticulați) apar albastre iar cele mature (predominanța corpilor elementari) roșii. Utile sunt și colorațiile Macchiavello sau Gimenez. Cea mai sensibilă și specifică este colorația imuno-fluorescentă.

(3) **Caractere de cultivare.** Cultivarea în sacul vitelin al embrionului de găină sau în culturi de celule sau de organ (e.g., fragmente din trompa lui Fallope) o urmărim prin apariția incluziunilor citoplasmice.

(4) **Rezistența în mediul extern.** Desecați, corpusculii elementari rămân infecțioși perioade lungi. Chlamidiile sunt inactivate repede prin sărurile cuaternare de amoniu, eter (în 30 minute), fenol soluție 0,5% (în 24 ore), căldura umedă la 60°C (în 10 minute).

(5) Structura antigenică. Serovarurile umane de *C. trachomatis* se împart în 3 grupe, în raport cu bolile pe care le produc: serovarurile A, B, Ba și C sunt agenții etiologici ai trahomului, serovarurile D-K ai uretritei, cervicitei și conjunctivitei cu incluziuni, iar serovarurile L₁-L₃ ai limfogranulomatozei inghinale veneriene.

(6) Factori de virulență. Proteinele *hsps* (acronimul de la *heat shock protein*) localizate în învelișurile chlamidiale sunt implicate în pătrunderea corpusculilor elementari în celule și stimulează răspunsul imun celular responsabil de fenomenele inflamatorii din focarul de infecție.

Lipoproteina MIP (acronimul de la *Macrophage Infectivity Potentiator protein*), deși nu este expusă pe suprafața corpurilor elementari, are probabil rol în virulență pentru că reacția cu anticorpii omologi are efect slab neutralizant al infecțiozității.

(7) Patogenitatea naturală și patogenie.

(i) *Infecția cu serovarurile A, B, Ba și C determină trahomul*, o conjunctivită foliculară acută care se cronicizează cu formarea de *panus* (invadarea corneei cu capilare care le prelungesc pe cele din rețeaua conjunctivală). În țările subdezvoltate trahomul este cea mai frecventă cauză de orbire.

(ii) *Serovarurile D-K sunt agenții bacterieni cu cea mai frecventă transmitere sexuală*. Bolile pe care le determină sunt funcție de sex și vârstă.

- *La bărbați* se manifestă uzual ca o uretrită mucopurulentă. Netratată se poate complica cu epididimită ori cu sindrom Reiter (artrită+conjunctivită+uretrită).

- *La femeie* evoluează ca cervicită sau, frecvent, inaparent. Complicațiile posibile sunt: endometrită, salpingită, perihepatită. Cicatricile tubare pot fi cauză de infertilitate ori sarcină ectopică.

- *La ambele sexe* pot să survină conjunctivite foliculare prin autoinoculare, care se vindecă fără urmări.

- *La nou-născutul* contaminat în canalul de naștere apare după câteva zile conjunctivită foliculară benignă și, cu incubatie mai lungă, pneumonie interstițială.

(iii) *Serovarurile L₁-L₃ determină limfogranulomatoza veneriană inghinală (LGV)*. Boala, transmisă sexual, debutează după o incubatie de 10-15 zile. Inițial apare un microșanceru pe gland, în vagin sau anus. Urmează o poliadenopatie inghinală care fistulizează. Infecția se poate extinde și la ganglionii iliaci. Rar infecția se propagă hematogen cu localizări articulare, meningeale, pericardice. Fără tratament, infecția se cronicizează cu leziuni scleroinflamatorii: stricturi rectale, elefantiaza penisului, scrotului, vulvei, prin obstruarea limfaticelor.

(8) Imunitatea. Infecția cu *C. trachomatis* induce formarea de anticorpi IgM, IgG, IgA, dar aceștia nu previn reinfecția. Chiar dacă secreția din trahom conține anticorpi specifici tip IgG și IgA, nu împiedică infecția. Mai mult, anticorpii care se leagă de corpusculii elementari de *C. trachomatis* nu le anulează infectivitatea în culturi de celule. Rolul precis al imunității celulare este în curs de evaluare.

(9) Diagnosticul de laborator. Conduita este în funcție de localizarea infecției.

(i) *În infecțiile superficiale* examinăm tampon endouretal (3-4 cm profunzime), din endocolul uterin (chlamidiile nu cultivă în epiteliul vaginal) și raclat conjunctival. În infecții la nou-născut sunt utile tampona nasofaringiene. În suspiciunea de LGV examinăm aspirat ganglionar sau puroi din fistulă.

Pentru depistarea chlamidiilor recurgem la:

- *Tehnici rapide:* Microscopia directă urmărește incluziunile intracelulare prin colorație imunofluorescentă (metodă sensibilă și specifică), Giemsa (sensibilitate și specificitate mediocre) ori Lugol (sensibilitate redusă, dar specificitate mare, încât această tehnică a rămas utilă doar pentru campaniile de depistare a trahomului în țările subdezvoltate).

Chlamidiile

Pentru diagnosticul infecțiilor genitale sondele ADN și PCR sunt cele mai specifice și sensibile metode.

• Izolarea chlamidiilor impune imersarea imediată a tampoanelor în mediul de transport cu zaharoză-fosfat-glutamat și prelucrarea lor în vederea inoculării pe culturi celulare (☞ mai sus).

(ii) În infecțiile profunde (e.g., epididimite, salpingite, pneumopatie) recurgem la serodiagnostic prin reacția de microimunofluorescență (semnificative sunt titrurile peste 1/64). ELISA are avantajul automatizării. Ambele tehnici pun diagnosticul de specie.

(10) Elemente de terapie etiotropă. Eficiente sunt tetraciclinele, macrolidele sau fluorochinolonele.

(11) Epidemiologia are aspecte variate, funcție de serovămurile de *C. trachomatis* implicate în infecție.

Trahomul este hiperendemic în zonele uscate și subdezvoltate din Asia, Africa și bazinul Mediteranei. Boala este contractată în copilărie prin degete, prosop, batistă contaminate. În alte regiuni ale lumii boala evoluează sporadic sau în mici focare epidemice. La scară mondială numărul bolnavilor depășește 400.000.000, dintre care 20.000.000 ajung la orbire din cauza suprainfecțiilor bacteriene și leziunilor cicatriciale.

Uretrita, cervicita, conjunctivita cu incluziuni și infecțiile neonatale sunt endemice în zonele cu promiscuitate sexuală (nu în mod necesar și subdezvoltate). Rezervor de infecție sunt persoanele cu infecție genitală manifestă sau inaparentă. Infecțiile se transmit sexual sau prin mâinile contaminate cu secreții genitale.

Limfogradulomatoza veneriană are ca rezervor de infecție pacienții cu leziuni genitale sau anale. Transmiterea este sexuală în condiții de promiscuitate.

Concomitent cu *C. trachomatis* sunt transmiși sexual și alți agenți infecțioși: gonococul, *Treponema pallidum*, virusul herpes simplex ș.a.m.d. Leziunile genitale ulcerative apărute în aceste condiții cresc riscul transmiterii virusului imunodeficienței umane.

Infecția neonatală cu *C. trachomatis* semnifică dezinteres pentru asistența gravidelor și carențe ale asistenței la naștere.

(12) Profilaxia impune creșterea nivelului socioeconomic, educație sanitară, sexuală și morală, acces la controlul medical pentru depistarea și tratarea corectă a celor infectați cu *C. trachomatis*.

24.2. GENUL *CHLAMYDOPHILA*

24.2.1. *Chlamydophila pneumoniae*

Această specie este găzduită natural de om și de cai. Are tropism pentru tractusul respirator. Cele mai multe infecții sunt asimptomatice. Când există, simptomatologia clinică este nespecifică: faringitele sunt comune; sinuzitele și otitele medii pot fi acompaniate de traheobronșite. O pneumonie atipică, similară clinic celei determinate de *Mycoplasma pneumoniae*, afectează 5-20% dintre tinerii colectivității generale. În plăcile de aterom au fost depistate gene și antigene de *C. pneumoniae*; de aceea rolul posibil al acestei bacterii în etiologia ateromatozei este în studiu.

Pentru diagnosticul de laborator examinămampoane faringiene. Urmărim *C. pneumoniae* pe frotiuri colorate imunofluorescent (sensibilitate scăzută) și prin izolare în sacul vitelin al embrionului de găină ori în culturi celulare, dar cultivă dificil. Cultivarea este urmărită după trei zile de incubație la 35°C prin colorație imunofluorescentă cu anticorpi specifici de grup sau specie.

Urmărirea anticorpilor specifici prin microimunofluorescență este cea mai sensibilă

metodă pentru diagnosticul infecțiilor cu *C. pneumoniae*. Seroconversia apare după cca 3 săptămâni de la debutul infecției. Semnificative pentru infecție sau reinfecție sunt titruri mai mari de 1/16 ale anticorpilor IgM sau de 1/512 ale celor IgG.

Fixarea complementului are specificitate numai de grup și nu diferențiază infecțiile determinate de cele două specii de *Chlamydophila* (*C. pneumoniae* și *C. psittaci*) și nici cele determinate de serovarurile L₁-L₃ ale *C. trachomatis*.

Pentru terapie antibioticele de elecție sunt tetraciclone, macrolide sau fluorochinolone.

Principalul rezervor de infecție este cel uman, transmiterea aerogenă, iar receptivitatea generală.

24.2.2. *Chlamydophila psittaci* *

Chlamydophila psittaci este natural găzduită de numeroase păsări sălbatice (pescăruși, petreli, egrete ș.a.), de agrement (porumbei, peruși, papagali, canari), domestice (curcani, rațe, găini) ori de mamifere (ovine, bovine, pisici).

Omul este infectat accidental, mai ales de tulpini aviare. De aceea și boala determinată este numită psitacoză sau ornitoză. Microorganismul inhalat se multiplică în pulmoni și poate fi antrenat în circulația sanguină. Infecția evoluează variat, de la forme inaparente la boală febrilă cu alură gripală și la pneumonie atipică severă cu eventuale localizări sistemice (e.g., endocardite). Infecția gravidelor cu tulpini ovine produce avort iar din placenta poate fi izolată *C. psittaci*.

Pentru diagnostic examinăm: spută, tampon nasofaringian, sânge, țesut pulmonar în cazurile letale.

Microscopia directă și cultivarea sunt dificile și nesatisfăcătoare pentru decizia clinică. Reacția de amplificare genică (PCR) a dat rezultate satisfăcătoare.

Pentru serodiagnostic urmărim anticorpi fixatori de complement cu specificitate de grup. Pe probă unică de ser titruri de cel puțin 1/32 sunt sugestive. O creștere de cel puțin 4 ori a titrului anticorpilor aduce certitudinea diagnosticului, dar această dinamică semnificativă apare în interval de 10 zile, iar la pacienții sub tratament antibacterian apare abia după 20-40 zile. Reacția de microimunofluorescență identifică specia infectantă.

Antibioticele de elecție pentru terapia psitacozei sunt tetraciclone, macrolide sau fluorochinolone.

Păsările infectate cronic elimină *C. psittaci* prin fecale. În condiții de stres (malnutriție, transport) infecția devine manifestă ca diaree. Contagiul uman se face prin inhalarea pulberilor rezultate din sfărâmarea dejectelor uscate ale păsărilor. Transmiterea interumană a psitacozei este rară.

Serviciile veterinare care depistează chlamidiozele aviare hotărăsc sacrificarea păsărilor dintr-o crescătorie cu măsuri de dezinfecție în focar.

LUMINIȚA SMARANDA IANCU

“Poliomyelitis: Virus (Flexner & Lewis, 1910; Landsteiner & Levaditi, 1910)”

F.H. GARRISON, 1929

În 1953 J.E. Salk a pus la punct vaccinul antipoliomielitic inactivat pe care a refuzat să-l patenteze din dorința de a-l vedea administrat peste tot. În 1956 A.B. Sabin a preparat vaccinul antipoliomielitic viu atenuat. Aceste vaccinuri au făcut posibilă vaccinarea antipoliomielitică generalizată. În 1988, când O.M.S. iniția programul de eradicare a poliomielitei, în lume erau înregistrate 350000 de îmbolnăviri pentru ca în anul 2000 să scadă la 3500, iar până la 21 iunie 2001 la 480 de cazuri. Dacă nu mai apar noi cazuri, în 2005 s-ar putea ca poliomiela să fie declarată a doua boală eradicată din lume.

Din publicațiile OMS 2001

25.1. CARACTERE GENERALE

Familia *Picornaviridae* reunește virusuri mici, nude, cu simetrie icosaedrică și capsida formată din 60 capsomere. Au genom ARN m.c., linear, cu sens pozitiv. Proteinele capsidale în număr de patru, VP1-VP4, rezultă prin clivarea unei macromolecule precursoare. Proteinele VP1-VP3 poartă epitopi care reacționează cu anticorpii neutralizanți, iar VP4 este asociată genomului. Cele 12 pentone ale icosaedrului capsidal sunt înconjurate de o crevasă în profunzimea căreia sunt liganzii pentru receptorii celulari specifici. Dispoziția în profunzimea crevasei face acești liganzi inaccesibili anticorpilor neutralizanți. Aceasta previne selectarea de variante antigenice ale liganzilor. De unde rezultă stabilitatea antigenică a picornavirusurilor. Anticorpii neutralizanți sunt numai obstacole care previn steric reacția ligand-receptor.

Picornavirusurile cu interes medical sunt grupate în genurile *Enterovirus* și *Rhinovirus*. Al treilea gen a fost separat dintre enterovirusuri și include agentul etiologic al hepatitei virale A (☞ Capitolul 35.1.). Dintre picornavirusurile animale amintim numai genurile *Aphthovirus* cu agentul etiologic al febrei aftoase, importantă pentru pierderile economice provocate în zootehnie, și genul *Cardiovirus*, patogen pentru șoareci.

Modelul replicativ al picornavirusurilor este prezentat în fig. 4-5. Sunt eliberate prin liza celulei gazdă.

25.2. ENTEROVIRUSURILE

Enterovirusurile se remarcă prin stabilitatea în mediu acid (pH 3-5), care le facilitează depășirea barierei gastrice. Sunt inactivate eficient la concentrații de 0,1 ppm clor activ în apă potabilă, dar nu și în apele menajere sau de canal unde sunt protejate de substanțele organice. Pasteurizarea le distruge eficient. Își pierde infectivitatea la temperatura ambientală cu atât mai repede cu cât aceasta e mai crescută. Supraviețuiesc săptămâni la 4° C și ani la temperaturi între -20° și -70° C.

Sunt optim replicate la 36-37°C în culturi primare din rinichi de om sau maimuță ori în linii celulare (e.g., HeLa).

Gama gazdelor de laborator, celulare, animale, variază mult cu tipul antigenic ori tulpina. Prin subcultivări repetate pe o anumită gazdă de laborator pot fi selectate variante cu tropism de gazdă diferit de cel al tulpinilor sălbatice și avirulente pentru om. Așa au fost obținute tulpinile virusului poliomieltic folosite ca vaccin atenuat.

Enterovirusurile includ: (i) Virusul poliomieltic cu tipurile antigenice 1, 2 și 3; (ii) Virusurile Coxsackie grup A, cu tipurile 1-24 (fără 23), și grup B, cu tipurile 1-6; (iii) Virusurile ECHO (sigla de la *Enteric Cytopathic Human Orphan*, orfane în sensul că inițial nu erau cunoscute sindroame clinice determinate de aceste virusuri) cu tipurile 1-34 (fără 10 și 28) și (iv) Enterovirusurile 68-71. Într-un viitor apropiat probabil virusurile ECHO 22 și 23 vor constitui un nou gen de picornavirusuri numit provizoriu *Orphanovirus*.

(1) Infecții și patogeneză. Enterovirusurile se transmit fecal-oral. Virionii fixați pe receptori ai celulelor faringiene sau enterocitelor își încep ciclul replicativ în orofaringe, amigdale, ganglioni limfatici cervicali, enterocite și formațiunile limfoide ale intestinului. Majoritatea infecțiilor evoluează inaparent.

Replicarea la poarta de intrare poate genera viremie, care se asociază cu apariția bolii febrile urmată de localizarea virusului în țesuturi și organe țintă cu apariția semnelor de suferință care particularizează diferitele sindroame din cursul enterovirozelor: sindroame neurologice, sindroame cutaneo-mucoase, sindroame cardiace și musculare, sindroame oculare, respiratorii, digestive etc. (tabelul 25-1).

Sindroamele neurologice sunt manifestate prin:

- **Poliomielita.** Virusul poliomieltic invadează pe cale sanguină sau pe calea axonilor sistemul nervos central. Replicarea virusului în neuroni determină lezarea sau distrugerea acestora urmată de neuronofagie prin polimorfonucleare și macrofagele gliale. Neuroni coarnelor anterioare ale măduvei spinării sunt cei mai afectați. În formele grave pot fi implicate și coarnele laterale, posterioare și chiar ganglionii spinali. Lezarea neuronilor motori inferiori determină paralizie flască, ireversibilă când neuronii sunt distruși. Rară, dar cu gravitate extremă este invazia nucleilor bulbari urmată de paralizii ale nervilor cranieni (paralizie respiratorie, tulburări de deglutiție etc.). Element major de risc pentru forma bulbară a poliomielticului sunt amigdalectomia, extracțiile dentare etc. practicate în perioada de incubație (favorizează propagarea virusului pe calea axonilor lezați în plaga operatorie).

În poliomielită este bine marcată evoluția bifazică a tabloului clinic: „boala minoră” (corespunde replicării virusului la poarta de intrare și viremiei), urmată de câteva zile de acalmie clinică și de „boala majoră” (corespunde replicării virusului în neuroni).

- **Paralizii și pareze non-poliomieltice** determină v. Coxsackie prin unele tipuri ale grupului A și tipurile 2-5 ale grupului B, unele tipuri de v. ECHO și enterovirusurile 70,71. Exceptând paralizii neregulate cauzate de enterovirusul 71, restul evoluează benign, spre vindecare.

- **Encefalite** determină tipuri de v. Coxsackie grup A și B, v. ECHO și enterovirus 71.

Sindroame cutanate și ale mucoaselor:

- **Exanteme febrile** determină multe infecții cu v. Coxsackie grup A, unele tipuri ale grupului B și v. ECHO.

- **Herpangina** evoluează cu leziuni veziculare faringiene (similare celor din primoinfecția cu virusul herpes simplex uman tip 1) și este determinată de câteva din tipurile grupului A de v. Coxsackie.

- **Boala gură-mână-picior** este o stomatită veziculară cu exantem al extremităților cauzată de câteva virusuri Coxsackie grup A și ocazional de enterovirus 71.

Sindroame cardiace și musculare sunt determinate în principal de virusuri Coxsackie grup B tipurile 1-5, dar pot fi implicate și câteva tipuri de v. ECHO sau v. Coxsackie grup A.

Picornavirusurile

Tabelul 25-1 Boli determinate de enterovirusuri (Adaptare după Gr. Teodorovici și colab., 1970; J.L. Melnick, 1995; P.Minor, 1998)

Sindroame și boli	virusul Poliomielitei tipuri 1-3	Virusurile Coxsackie Grup A tipuri 1-24	Grup B tipuri 1-6	virusurile ECHO tipuri 1-34	Enterovirus 68-71
Sindroame neurologice					
Poliomielită	1-3 P				
Encefalite		2, 5-7, 9 p	1-5 p	2, 6, 9, 17, 19 p	71 P
Radiculo-mielopatie lombară					70
Meningite aseptice	1-3	multe	1-6	multe	71
Tegumente și mucoase					
Herpangină		2-6, 8, 10			
Boala gură-mână-picior		5, 9, 10, 16			71
Exanteme		multe	1,3,5	2,4,6,9,11,16,18	
Cardiace și musculare					
Mio- sau pericardită		4,16	1-6	5,6,9,19	
Boala Bornholm (pleurodinie)			1-6		
Oculare					
Conjunctivită acută hemoragică		24			70
Keratite					70
Respiratorii					
„Gripa de vară”		2, 24	1,3,4,5	4,9,11,20,25	
Bronșiolite/pneumonii interstițiale la copii			4,5		68
Gastrointestinale					
Diaree		18, 20, 22,24		18,20	
Hepatite		4,9	5	4,9	
Alte sindroame					
Boală febrilă nediferențiată	1-3		1-6		
Boală neonatală			1-5	3, 6, 9, 11,17,19	
Diabet			4		

P – paralizii; p – pareze uneori, recuperabile

• *Miocardite* sau *pancreatite* evoluează mai grav în infecțiile cu v. Coxsackie grup B.

• *Pleurodinia* (sinonime: mialgia epidemică, boala din Bornholm) debutează brusc cu febră (moderată) și dureri toracice exacerbate de mișcări. Debutului i se pot asocia: stare de rău, cefalee și anorexie. Dureri abdominale manifestă cca 50% dintre adulții bolnavi, dar predomină la copii. Agenții etiologici incriminați erau tipurile 1-5 de v. Coxsackie grup B. Dar în 1970 Teodorovici, Buiuc, Zavate și colab. au documentat virologic și serologic implicarea v. Coxsackie B tip 6 într-un focar epidemic la copii diagnosticați inițial cu pseudoabdomen acut (două apendicectomizări).

Sindroame oculare. *Conjunctivită acută hemoragică* poate fi determinată de v. Coxsackie A tip 24 sau enterovirus 70, ultimul putând fi implicat și în *keratite*.

Sindroame respiratorii:

• *Gripa de vară* manifestată ca o răceală comună (guturai), dar cu transmitere fecal-orală este cauzată de unele serotipuri de v. Coxsackie grup A sau B și v. ECHO.

• *Bronșiolită* și *pneumonii interstițiale* determină la copii enterovirus 68 și câteva tipuri de v. Coxsackie grup A și B.

Sindroame digestive manifestate prin *diaree*, mai rar prin *hepatite*, apar în infecțiile

cu unele tipuri de v. Cocksackie și v. ECHO.

Boală febrilă nediferențiată pot cauza fiecare dintre tipurile v. poliomieltic și virusurilor Cocksackie grup B.

Diabet zaharat apare după lezarea insulelor Langerhans în infecția cu v. Cocksackie B tip 4.

O boală generalizată cu afectare multiviscerală și mortalitate mare determină la sugari v. Cocksackie grup B, tipurile 1-5, și câteva tipuri de v. ECHO.

(2) Imunitatea. Anticorpilor neutralizanți serici apar precoce, persistă toată viața și se transmit transplacentar. Previn propagarea hematogenă a enterovirusurilor spre organele țintă (e.g., a v. poliomielitei și a altor enterovirusuri paralitogene spre sistemul nervos central), dar propagarea pe calea fibrelor nervoase este întreruptă numai de titruri mari ale anticorpilor neutralizanți.

Anticorpilor IgA secretori asigură protecția contra infecțiilor cu enterovirusuri.

(3) Diagnosticul de laborator. Enterovirusurile pot fi izolate din faringe și fecale chiar în perioada de incubare a bolii. O săptămână după debutul bolii concentrația virusului în faringe scade mult, dar eliminarea fecală continuă încă 5-6 săptămâni.

Pentru **diagnosticul direct** examinăm întotdeauna spălătură faringiană și fecale și, în funcție de sindrom, mai putem examina LCR, exsudat conjunctival, raclat corneean. În infecțiile cu v. Cocksackie A 21 mari cantități de virus găsim în scurgerea nasală. La decedații suspecți de poliomielită examinăm probe din segmentul lombar și cervical al măduvei spinării și conținutul colonului.

În meningite aseptice concentrația leucocitelor în LCR variază între 10-200/mm³, rar peste 500/mm³. La debut predomină polimorfonuclearele, iar în următoarele zile limfocitele. Caracteristic în poliomielită găsim disocierea albumino-citologică: proteinorahie de 40-50 mg/dL sau mai mult, care poate persista săptămâni, în contrast cu concentrația moderată sau redusă a leucocitelor. Glicorahia este normală.

Izolarea enterovirusurilor o facem în culturile de celule precizate mai sus. Este facilitată de efectul citopatic ușor de urmărit: rotunjirea și desprinderea celulelor de pe suport (planșa 4.2,2). Virusurile Cocksackie pot fi izolate și prin injectarea la șoricea nou născuți: cele de grup A determină paralizie flască prin leziuni de miozită, iar cele grup B paralizie spastică și tremurături prin leziuni cerebrale. Identificarea izolatelor o facem prin reacții de neutralizare. La reacția de inhibare a hemaglutinării recurgem rar, numai pentru tipurile hemaglutinante.

Enterovirusurile izolate din LCR au semnificație clinică. Cele izolate din fecale, conținut intestinal ori spălătură faringiană nu au necesar semnificație clinică din cauza marelui număr de infecții inaparente. Autoserodiagnosticul este cel care demonstrează semnificația clinică a unor asemenea izolate (☞ Subcapitolul 39.3.2.2).

Serodiagnosticul poliomielitei este bazat pe seroconversia sau dinamica semnificativă a anticorpilor neutralizanți ori fixatori de complement. De aceea de la pacienții suspecți trebuie examinate două probe de ser prelevate la interval de două săptămâni.

Virusul poliomielitei are trei antigene cu specificitate de tip: A (poate fi pus în evidență prin imunoprecipitare, reacție insuficient de sensibilă), C și D care pot fi identificate prin ELISA ori reacția de fixare a complementului (☛ Subcapitolul 39.3.3.). Forma D a antigenului reprezintă virionul integral. Forma C poate fi obținută din forma D prin încălzire și este formată din capsidă goală.

Anticorpilor fixatori de complement anti-C apar în primele zile de boală și dispar primii: sunt anticorpilor serurilor din perioada acută a infecției. După 1-2 săptămâni sunt prezenți ambii anticorpi pentru ca în convalescență să persiste numai cei anti-D.

Serodiagnosticul cazurilor sporadice ale altor enteroviroze nu este posibil din cauza multitudinii serotipurilor. Excepție fac epidemiile când putem prepara un antigen al tulpinii epidemice.

(4) Tratament antiviral nu există.

(5) Epidemiologie. Rezervorul de infecție este uman, iar transmiterea fecal-orală favorizată de condițiile igienico-sanitare deficitare. În zonele calde infecțiile se manifestă tot timpul anului, iar în cele temperate au un vârf estivo-autumnal. Receptivitatea este maximă la vârsta copilăriei: precoce în țările subdezvoltate, ajunge la cea a copilului mare în țările dezvoltate și a adultului în zonele circumpolare, legat de limitarea circulației acestor virusuri.

Pe măsura acumulării de populație receptivă apar izbucniri epidemice cu tipurile antigenice pentru care populația infantilă nu este protejată prin anticorpi. Așa au fost în România epidemiile de meningită cu v. ECHO din 1973 și 1999; epidemiile de poliomielită din 1948 și 1957, înaintea generalizării vaccinării antipoliomielitice.

(6) Combatere și profilaxie. Măsurile de combatere a enterovirozelor includ izolarea bolnavilor pentru controlul eficient al eliminărilor fecale și orofaringiene de virus. Carantinarea contactilor nu dă rezultate din cauza prevalenței mari a infecțiilor inaparente. Mai sunt indispensabile: controlul și protecția surselor de apă, controlul evacuării apelor menajere, desmuștizare, educație sanitară.

Vaccinarea este posibilă numai contra v. poliomielitei, care are numai 3 serotipuri. Imunoglobulinele umane standard oferă protecție pe timp strict limitat.

Disponem de trei feluri de vaccin:

(i) *Vaccinul oral trivalent atenuat* (vaccinul Sabin). Determină infecție inaparentă cu replicarea virusului în intestin și difuziunea în colectivitate. Vaccinarea începe în cursul ferestrei imunologice a sugarului odată cu vaccinarea anti-DTP și se administrează trei doze la interval de 2-15 luni. Până la începutul școlii primare mai sunt necesare trei vaccinări de rapel. Vaccinarea asigură nivele protectoare ale anticorpilor Ig A, Ig G și Ig M. Administrarea vaccinului atenuat trebuie făcută primăvara precoce pentru a evita ineficiența prin interferență cu alte enterovirusuri.

Cazurile de paralizii postvaccinale datorate conservării incorecte a vaccinului (respectarea „lanțului de frig”) sunt rare: 1 caz la cca 2.600.000 doze de vaccin oral.

(ii) *Vaccinul formolat* (vaccinul Salk) îl administrăm parenteral numai la persoane imunodeficiente. Asigură formarea numai a anticorpilor Ig G și Ig M. Ca atare protejează numai față de boală, nu și față de infecția inaparentă.

(iii) *Vaccinul recombinant*. În genomul unei tulpini atenuate de tip 1 sunt clonate gene care codifică proteinele VP1 ale tipurilor 2 și 3. Acest vaccin elimină rarele cazuri de boală paralică observate după administrarea trivaccinului atenuat.

Data fiind sursa exclusiv umană, numărul tipurilor antigenice limitat la trei și eficiența vaccinării antipoliomielitice, această boală a intrat în faza de eradicare.

25.3. RINOVIRUSURILE

Guturaiul sau răceala comună are drept cauză cea mai frecventă rinovirusurile.

Virusul, inhalat sau dus la nas și orofaringe cu mâinile contaminate cu secreții nasale, este replicat în celulele mucoasei nasale și nasofaringiene unde la 2-4 zile de la contagiu atinge concentrația maximă asociată cu simptomatologia și contagiozitatea maximale ale bolii. Ulterior titrul virusului din spălătura nasală și faringiană scade, deși semnele bolii mai persistă până la 7 zile.

Modificările histopatologice privesc submucoasa și epiteliul nasal și nasofaringian. Submucoasa este congestivă, edemațiată, cu discret infiltrat inflamator. De aici senzația de nas și urechi înfundate. În a 4-a zi de boală necroza și descuamarea epitelială este totală. Perturbarea transportului muco-ciliar favorizează suprainfecția bacteriană a sinusurilor și urechii medii. Pacienții au inițial hipersecreție nasală clară apoi, pe măsura suprainfecției

bacteriene, purulentă.

Facem guturai cel puțin o dată pe an pentru că există peste 100 serotipuri ale rinovirusurilor, care nu imunizează încrucișat, iar imunitatea este de scurtă durată.

Tratament antiviral nu există.

Profilaxia impune utilizarea batistelor dispozabile cu efect virulicid care protejează aerul încăperilor, spălarea frecventă a mâinilor, evitarea aglomerațiilor în conjunctură epidemică.

Reovirusurile au virion nud, diametrul de 60-80 nm și dublă capsidă, probabil icosaedrică. Genomul ARN d.c. are 10-12 segmente. Sunt replicate în citoplasmă. Dintre cele opt genuri ale familiei *Reoviridae*, numai patru au fost izolate din infecții umane: *Coltivirus*, *Orbivirus* (☞ Capitolul 34), *Orthoreovirus* și *Rotavirus*.

(1) **Orthoreovirusurile** cultivă în celule primare de rinichi de maimuță sau de la alte specii în care formează incluziuni citoplasmice. Are trei serotipuri frecvent izolate din secreții faringiene și fecale ale copiilor. Adulții au anticorpi care dovedesc trecerea prin infecție în copilărie. Probabil cele mai multe sunt asimptomatice pentru că orthoreovirusurile nu au fost corelate cu vreo entitate nosologică umană. Este doar sugerat că ar putea fi asociate cu infecții ale tractusului respirator, enterite ale sugarilor și copiilor și, posibil, atrezia biliară neonatală.

(2) **Rotavirusurile** au un antigen de capsidă internă detectabil prin reacție de fixare a complementului, colorație imunofluorescentă sau ELISA. Antigene majore împart rotavirusurile în două subgrupe. Rotavirusurile umane aparțin serogrupului A. Pe capsida externă a fost identificat, prin reacție de neutralizare, un antigen specific de tip care împarte rotavirusurile în serotipuri, dintre care șase sunt umane, iar trei animale.

Rotavirusurile umane cultivă numai dacă sunt pretratate cu tripsină, iar enzima este inclusă la concentrații mici în mediul de cultură al celulelor. Tripsina clivează capsida externă și favorizează decapsidarea.

Rotavirusurile infectează și lezează celulele producătoare de dizaharidaze din vârful microvililor enterocitari. Dizaharidele nedigerate rămân neabsorbite și sunt fermentate de microbiota colonului unde generează molecule osmotice active și pH acid, ambele condiții diareigene prin eflux hidroelectrolitic și iritarea mucoasei.

După incubare de 1-3 zile, gastroenterita rotavirală evoluează primele 24 ore cu vărsături și 4-8 zile cu diaree. Pierderile hidroelectrolitice pot fi grave.

Rotavirusurile determină 30-50% din boala diareică acută a copiilor sub vârsta de trei ani. În primii 5-6 ani de viață cca 90% din copii devin imuni la aceste infecții. Adulții sunt infectați rar, iar nou-născuții sunt protejați prin anticorpii IgA secretori din laptele matern.

Scaunul bolnavilor conține până la 10^{12} virioni/g, de unde marea contagiozitate a bolii transmise fecal-oral.

Gastroenterite virale sunt suspectate în conjunctură epidemică dacă: răspândirea este explozivă, incubarea și evoluția sunt scurte cu simptomatologie sistemică minoră, lipsesc în

scaun bacterii recunoscut enteropatogene (☞ Capitolele 11 și 12). Depistarea virusului în fecale prin: imunoelectronmicroscopie, ELISA, sonde de acizi nucleici ori amplificare genică (PCR) confirmă diagnosticul.

Tratament etiotrop nu există. Reechilibrarea hidroelectrolitică a pacienților se poate impune. Cercetările pentru un vaccin anti-rotaviral sunt în curs.

(3) Alți agenți ai gastroenteritelor virale

Calicivirusurile seamănă morfo-structural cu picornavirusurile, dar sunt puțin mai mari (35-39 nm). Dintre serotipurile umane mai cunoscut este virusul Norwalk.

Astrovirusurile de asemenea sunt asemănătoare picornavirusurilor. Au fost izolate de la copii mici, viței și miei cu diaree. La voluntari determină diaree, dar și infecții inaparente.

Diareigene mai sunt serotipurile 40, 41 de adenovirus (☞ Capitolul 31) și, mai rar, virusurile ECHO sau Cocksackie (☞ Capitolul 25). Electronmicroscopic, au fost observate particule similare *coronavirusurilor* atât în scaunul pacienților cu diaree cât și al unor persoane normale. Implicarea în boala diareică acută a coronavirusului OC 43 este bazată pe un număr limitat de observații (☞ Capitolul 28.3.).

Dintre cele patru genuri ale familiei, interes medical prezintă trei: virusul gripal A, v. gripal B și v. gripal C, pe care le numim generic virusuri gripale.

Orthomixovirusurile au virioni sferici pleomorfi, cu diametrul de 80-120 nm, nucleocapsidă helicală și anvelopă (planșa 4.1,4). Genomul este ARN m.c. linear cu polaritate negativă, segmentat și are asociată o ARN-polimerază. Numărul segmentelor genomice variază în funcție de gen: 8 la virusurile gripale A sau B și 7 la virusul gripal C. Anvelopa virusurilor gripale conține două glicoproteine, hemaglutinina și neuraminidaza, care proemină ca spiculi.

Hemaglutinina funcționează ca ligand la receptori celulari care conțin acid sialic.

Neuraminidaza rupe resturile de acid sialic din moleculele glicoproteice ale mucusului și glicocalixului eucariot; este deci o sialidază. Prin aceasta are trei funcții importante: (i) lichefiază mucusul de înveliș al epiteliului respirator și deschide accesul virionilor gripali spre receptori celulari; (ii) facilitează eliberarea virionilor de pe suprafața celulelor după morfogeneza prin înmugurirea membranei citoplasmice; (iii) previne autoagregarea virionilor prin resturile de acid sialic din anvelopă.

Replicarea. După fixarea pe receptori celulari, virusurile gripale sunt endocitate prin fuziunea membranei celulare cu anvelopa (planșa 4.4,4). Decapsidarea are loc în citoplasmă.

Transcripția și replicarea genomului au loc în nucleul celulei gazdă cu afectarea minimă a funcțiilor acestuia. Această diferență față de replicarea altor virusuri ARN m.c. cu polaritate negativă decurge din faptul că primerii pentru transcripție, extremitățile 5' metilate, sunt sintetizate de ARN-polimeraza celulară II. Abia în prezența acestor primeri devine funcțională ARN-polimeraza virală care controlează sinteza catenei ARN cu polaritate pozitivă și a ARNm. Catena ARN cu sens pozitiv completă este folosită ca matrice pentru replicarea genomului viral. Sinteza proteică și asamblarea nucleocapsidei au loc în citoplasmă, iar virionii se maturează înmugurind prin membrana citoplasmică (planșa 4.4,5).

Habitat. Virusul gripal A infectează omul, mamifere (cai, porci etc.) și păsări (rațe, găște, găini ș.a.), virusurile gripale B și C sunt găzduite numai de om.

Structura antigenică. Proteinele nucleocapsidei, identificate prin reacții de fixare a complementului, sunt specifice de gen. Glicoproteinele de anvelopă au variații antigenice de subtip și tulpină la virusurile gripale A și B, dar sunt stabile antigenic la virusul gripal C.

Virusurile gripale au două tipuri de variație antigenică: variația minoră, mutațională, și

variația majoră, prin reasortare genomică.

(i) *Variația antigenică minoră*. Mutații ale genelor care codifică glicoproteinele anvelopei fac hemaglutinina și neuraminidaza doar parțial recunoscute de sistemul imun. De aici decurge capacitatea mutantelor de a genera infecții într-o populație imună la tulpina parentală. Astfel sub presiunea imunologică a populațiilor gazdă sunt selectate tulpinile epidemice ale virusurilor gripale A sau B.

(ii) *Variația antigenică majoră*, proprie numai virusului gripal A, apare prin reasortări genomice între subtipuri virale. Reasortări sunt posibile când subtipuri de virus gripal A provenite de la gazde diferite infectează aceeași celulă: în cursul morfogenezei segmente genomice cu subtip diferit sunt asamblate în aceeași nucleocapsidă. Varianta rezultată va avea o hemaglutinină și/sau neuraminidază complet noi, care surprind imunologic descoperită toată omenirea. Rezultă răspândirea explozivă, pandemică a noii variante. Virusurile gripale A izolate de la gazde cunoscute însumează 15 variante antigenice ale hemaglutininei (H1-H15) și 9 ale neuraminidazei (N1-N9). De aici rezultă potențialul deosebit al variației antigenice majore de a determina periodic noi și noi subtipuri de virus gripal A.

Nomenclatura subtipurilor de virus gripal A respectă reguli stabilite de Organizația Mondială a Sănătății. Numele sunt compuse și includ: genul (tipul), gazda de origine (exceptând omul), aria geografică a izolării, numărul tulpinii și anul izolării cu precizarea, între paranteze, a formulei antigenice: e.g., A/equin/Praga/1/56 (H7N7), A/porcin/New Jersey/8/76 (H1N1). Gazde incriminate în geneza reasortanților virusului gripal A au fost: caii, porcii etc. Densitatea mare a populației umane din teritoriul de apariție a variantei favorizează replicarea explozivă cu amorsarea pandemiei. Frecvent asemenea arii sunt China, HongKong, Singapore ș.a.

„Arheologia” genetică argumentează că subtipurile umane ale virusului gripal A au apărut în sec. XIX urmare a variației genetice a unui virus gripal aviar.

Infecția naturală și patogeneza. Ajunse pe mucoasa respiratorie, virusurile gripale fluidifică prin neuraminidază mucusul. Așa este creat accesul virionilor spre receptorii celulelor ciliate și caliciforme ale epiteliului respirator pe care le infectează și le necrozează. Celulele tinere, bazale, nu sunt afectate (☞ Capitolul 4.4.: permisivitatea pentru anumite virusuri funcție de vârsta celulelor). De la celulele inițial infectate virusul cuprinde, din aproape în aproape, tot epiteliul respirator.

Interferonul apare în secrețiile respiratorii o zi după contagiu și joacă rol principal în vindecarea bolii care survine în 3-7 zile. Anticorpii sunt detectați abia după 1-2 săptămâni de la debutul bolii (fig. 6-4). Virusul gripal este prezent în nasofaringe 1-2 zile înainte de debutul bolii până la 1-2 zile după vindecarea clinică.

Moartea și descuamarea celulară determinate de replicarea virală inițiază edemul și infiltrația mononucleară răspunzătoare de simptomatologia respiratorie a gripei. Simptomatologia sistemică a bolii nu este încă explicată satisfăcător pentru că virusurile gripale sunt rar izolate din sânge. Vindecarea completă a leziunilor epiteliului respirator durează și o lună de zile, iar dezorganizarea transportului mucociliar deschide calea complicațiilor prin suprainfecția bacteriană.

Gripa debutează brusc, la 1-4 zile după contagiu, cu frisoane, cefalee, tuse uscată. Curând apar febra mare, dureri musculare generalizate, stare de rău, anorexie și astenie. Febra și manifestările sistemice cedează după 3 zile, dar tusea și astenia mai persistă 1-3 săptămâni. Există și infecții inaparente. Acesta este, în rezumat, tabloul clinic al bolii determinate de virusurile gripale A și B. Infecția cu virusul gripal C evoluează ca o răceală comună (☞ Capitolul 25.3.).

Complicațiile majore ale gripei sunt: pneumoniile și sindromul Reye. Pot apărea și

suprainfecții bacteriene ale sinusurilor, urechii medii sau pulmonilor.

Pneumoniile pot fi determinate de însuși virusul gripal sau de suprainfecții bacteriene. Aproximativ 75% sunt însă viro-bacteriene. Determină excesul mortalității prin gripă la gravide și la pacienții cu boli cardio-vasculare, pulmonare ori renale cronice. Bacteriile frecvent implicate sunt *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* și *Haemophilus influenzae*. Mortalitatea până la 42% a pneumoniilor prin suprainfecția cu *S. aureus* este explicată de sinergismul acestei bacterii cu virusul gripal: o protează a *S. aureus* clivează hemaglutinina și crește astfel titrul infecțios al virusului gripal din pulmoni.

Sindromul Reye este o encefalopatie acută cu degenerescență grasă a ficatului și mortalitate de cca 40%. Afectează copii în vârstă de 2-16 ani supuși tratamentului cu derivați ai acidului salicilic în cursul gripei sau varicelei. Evoluează epidemic în infecțiile cu virus gripal B.

Imunitatea. Virusurile gripale nu imunizează încrucișat. Anticorpii IgA secretori anti-hemaglutinină previn infecția, iar cei anti-neuraminidază previn infecția invazivă și limitează contagiozitatea bolii. Rolul anticorpilor serici este necunoscut. Limfocitele T citotoxice lizează celulele infectate.

Anticorpii fixatori de complement au viață limitată la câteva luni, iar cei inhibitori ai hemaglutinării persistă mulți ani.

Variațiile antigenice minore ale virusurilor gripale determină forme ușoare de boală la persoane care au trecut prin infecția cu tulpina parentală. Față de subtipurile pandemice de virus gripal A populația nu are experiență imună și îmbolnăvirile sunt grave.

Diagnosticul etiologic al gripei poate fi direct și indirect.

(i) Pentru **diagnosticul direct** examinăm: tampon faringian, nasal sau spălătură de la aceste nivele. Sensibilitatea diagnosticului este asigurată dacă examinăm probele imediat sau, când aceasta nu este posibil, conservate în mediul de transport la 4°C sau la -25°C.

Metodele clasice de izolare, pe ouă embrionate ori în culturi de celule primare de rinichi ai maimuțelor *Rhesus* sau *Cynomolgus*, permit studiul antigenic al tulpinilor în scop epidemiologic sau al preparării de vaccinuri.

Metodele rapide pentru depistarea virusurilor gripale includ: colorația imunofluorescentă (depistează virusul în celule nasofaringiene), tehnicile ELISA, sondele de acizi nucleici ori reacția de amplificare genică (PCR).

(ii) Pentru **diagnosticul serologic** urmărim, în seruri prelevate cât mai precoce în cursul bolii (ser acut) și în convalescență (ser convalescent), seroconversia ori dinamica specifică a anticorpilor. Utilizăm reacția de fixare a complementului (puțin sensibilă), reacția de inhibare a hemaglutinării ori ELISA (cea mai sensibilă). Funcție de antigenele utilizate putem preciza genul, subtipul sau varianta antigenică a virusului infectant. Valoare diagnostică au seroconversia sau creșterea de cel puțin 4 ori a titrului anticorpilor în serul de convalescent față de serul acut.

Tratament. Amantadina sau rimantadina reduc la jumătate perioada bolii. Au apărut tulpini de virus gripal A rezistente la aceste medicamente antivirale. Pentru combaterea febrei este formal contraindicată utilizarea antipireticelor derivate din acid acetilsalicilic (pericolul sindromului Reye). Suprainfecția bacteriană poate fi prevenită prin tratament patogenetic și antibiotic.

Epidemiologie. Sursa de infecție este umană pentru virusurile gripale B și C iar pentru virusul gripal A umană sau animalele care asigură reasortările genomice ale virusului. Boala se transmite prin picături Flüge și mâini sau obiecte contaminate cu virus gripal. Receptivitatea este generală.

Gripa cu virus C apare sporadic, cea cu virus B epidemic, iar cea cu virus A epidemic sau pandemic. Subtipurile pandemice de virus gripal A identificate sunt: H1N1 porcine pentru

pandemia de „gripă spaniolă” din 1918-1919 când au murit peste 20.000.000 oameni; H2N2 asiatic – pandemia din 1957; H3N2 Hong Kong – pandemia din 1968 și H1N1 rus – pandemia din 1977. Ultimele două subtipuri mai sunt cocirculante. Epidemiile de gripă cu virus A se succed la intervale de 2-3 ani, cele cu virus B de 3-6 ani. Pandemiile survin la intervale de 10-40 ani.

Profilaxia. Vaccinul gripal este eficient în măsura în care include noile tulpini epidemice. Pentru aceasta Organizația Mondială a Sănătății, după analiza comunicărilor făcute de Centrele Naționale de Referință pentru supravegherea epidemiologică a gripei, în luna februarie a fiecărui an, recomandă tulpinile care trebuie incluse în vaccinul pentru sezonul următor de gripă. Vaccinurile antigripale utilizate în prezent sunt: vaccinul integral inactivat și vaccinuri purificate care conțin fracțiuni de virion sau antigene de suprafață. Au eficiență în jur de 70%. Vaccinarea este selectivă (colectivitate cu risc) sau electivă (pacienți cu risc). Vaccinul integral inactivat conține proteine din ou, de aceea este contraindicat la cei sensibilizați față de aceste antigene. În campania de vaccinare antigripală din 1976, cu virus porcîn, în SUA a apărut sindrom Guillain-Barré cu o frecvență de 5 ori mai mare la vaccinați decât la nevaccinați. Chimioprofilaxia cu amantadină sau rimantadină este electivă.

28.1. FAMILIA *PARAMYXOVIRIDAE*

LUMINIȚA SMARANDA IANCU

Paramixovirusurile au structură și morfologie asemănătoare ortomixovirusurilor, dar sunt mai mari (150-300nm) și mai polimorfe. Au genomul nesegmentat și sunt antigenic stabile. Două glicoproteine de anvelopă le diferențiază în trei genuri: *Paramyxovirus*, *Morbilivirus* și *Pneumovirus*. Glicoproteina mai mare funcționează ca ligand și este numită H sau NH, după cum are numai activitate hemaglutinantă sau/și neuraminidazică. Cealaltă glicoproteină, numită F pentru că determină fuziunea membranelor citoplasmice cu formare de sinciții (planșa 4.3,1), este hemolitică.

(i) Genul *Paramyxovirus* reunește virusuri care au glicoproteinele NH și F. Cu interes medical sunt virusul paragripal uman și virusul parotiditei epidemice.

(ii) Genul *Morbilivirus* cuprinde virusuri care au glicoproteinele H și F. Spre deosebire de celelalte paramixovirusuri produc nu numai incluziuni citoplasmice, ci și nucleare. Cu interes medical este numai virusul rujeolei. Înrudite antigenic sunt virusul jigodiei canine și al peștei bovine.

(iii) Genul *Pneumovirus* este particularizat prin glicoproteina mare lipsită de activitate hemaglutinantă și neuraminidazică, motiv pentru care este numită proteina G. Glicoproteina F determină fuziunea membranelor celulare, dar nu este hemolitică. Cu interes medical este numai virusul respirator sincițial.

Paramixovirusurile sunt replicate în citoplasmă, iar efectul citopatic comun este formarea de sinciții și incluziuni acidofile citoplasmice.

Virusurile paragripale și respirator sincițial sunt cele mai importante cauze ale infecțiilor respiratorii la copii sub vârsta de 5 ani și omoară anual cca 4.000.000 copii. Virusul rujeolic și cel urlian determină infecții sistemice frecvente ale copilăriei: rujeola și parotidita epidemică.

28.1.1. Genul *Paramyxovirus*

28.1.1.1. Virusul paragripal. Infecții la om determină serotipurile 1-3. Evoluția infecției diferă cu vârsta. *La copilul mic* este, după virusul respirator sincițial, a doua cauză a infecțiilor respiratorii grave: laringotraheite cu crup (în special serotipul 2), bronșite, bronșiolite și

pneumonii (în special serotipul 3). Infecțiile *copilului mare* și adultului evoluează ca răceli comune.

Anticorpilor IgA secretori previn infecția. Anticorpilor neutralizanți serici nu previn infecția dar îi scad severitatea. Răspunsul imun celular are rol în vindecare, dar este insuficient studiat. Imunitatea este de scurtă durată. Reinfecții la vârste mai mari sunt posibile.

Pentru diagnosticul direct examinăm: spălătură nasală sau aspirat nasofaringian. Succesul diagnosticului direct este asigurat de examinarea probelor prelevate în primele 3-4 zile de boală. Virusul poate fi detectat rapid prin colorație imunofluorescentă sau ELISA. Poate fi izolat pe culturi primare de rinichi de maimuță în care determină formarea de sinciții și hemadsorbția eritrocitelor de cobai. Izolatele sunt identificate prin reacția de inhibiție a hemaglutinării, reacția de neutralizare sau colorație imunofluorescentă.

Serodiagnosticul este prea tardiv pentru decizia clinică; poate fi util pentru scopuri epidemiologice. Serul acut trebuie prelevat în prima săptămână de boală, iar cel tardiv după minimum două săptămâni de convalescență.

Tratament antiviral nu a fost aprobat. În cazurile grave de infecție la imunodeficienți a fost încercat ribavirinul.

Infecția cu virusul paragripal este ubicvitară. Serotipul 1 circula mai ales iarna iar serotipul 3 vara. Prima infecție este precoce încât majoritatea copiilor au anticorpi față de acest virus.

Vaccin antiviral paragripal nu există.

28.1.1.2. Virusul urlian. Virusul urlian, antigenic omogen, determină parotidita epidemică, boală contagioasă acută caracterizată prin inflamația nesupurativă a glandelor parotide. Incubația bolii este de 7-25 zile, în medie 18 zile. Aproximativ 1/3 din infecții sunt inaparente. Inițial virusul este replicat în epiteliul tractusului respirator superior după care se răspândește viremic cu localizări în variate organe. Parotidele sunt infectate direct prin canalul Stenon sau hematogen. Pacienții au febră moderată cca o săptămână. Virusul se elimină prin salivă o săptămână înainte și una după tumefierea glandelor parotide.

Complicațiile parotiditei epidemice sunt urmare a replicării virusului în organe țintă altele decât glandele parotide.

Rinichii sunt frecvent infectați încât majoritatea pacienților au virurie până la 14 zile, dar rar au semne de nefrită.

Până la 15% din infecții se însoțesc cu *meningoencefalite*, care debutează la 5-7 zile după inflamația glandelor salivare, dar pot apărea și concomitent sau în absența parotiditei. Evoluția este uzual benignă.

La pubertate sunt bine cunoscute *orhitele* și *ovaritele* urliene.

Complicații rare sunt: *poliartrite autolimitate*, *tiroidite*, *pancreatite* ușoare, *nevrite auditive* unilaterale (urmate de surditate), *hidrocefalie* prin stenoza apeductului silvian.

Interferon apare în cursul infecției, dar cu rol neprecizat în vindecarea bolii. Imunitatea postinfecțioasă este asigurată de anticorpi Ig G neutralizanți. Rolul imunității celulare este necunoscut, dar intradermoreacția la antigenul urlian este test pentru capacitatea unui organism de a monta răspuns imun celular.

Diagnosticul etiologic, dată fiind evoluția tipică a bolii, rămâne justificat numai în cazurile de meningoencefalită care evoluează fără parotidită. Examinăm: exsudat faringian, salivă, urină. Izolarea virusului din lichidul cefalorahidian, de cele mai multe ori, nu este posibilă. Virusul izolat în culturi primare de rinichi de maimuță este identificat prin efectul citopatic (formare de sinciții) și prin colorație imunofluorescentă, inhibarea hemadsorbției, a hemaglutinării etc.

Serologic, ELISA este mai utilă pentru că diferențiază anticorpilor IgM de cei IgG.

Paramixovirusuri, virusul rujeolei și coronavirusuri

Alternativ putem recurge la metodele clasice: reacția de fixare a complementului sau inhibiție a hemadsorbției prin care urmărim creșterea de cel puțin patru ori a titrului anticorpilor în serul de convalescent față de cel acut.

Tratament antiviral nu există.

Rezervorul de infecție este uman, transmiterea virusului aerogenă iar receptivitatea generală.

Izbucniri epidemice limitate sunt posibile la nevaccinați, infecția afectează până la 90% din copiii sub vârsta de 15 ani.

Contagiozitatea relativ redusă a bolii face ca unii adulți să rămână receptivi.

Un vaccin viu atenuat previne boala cu eficiență de 95%.

28.1.2. Genul *Morbilivirus*

Virusul rujeolei este antigenic omogen. Rujeola este o boală contagioasă acută caracterizată prin febră, semne respiratorii și erupție maculo-papuloasă.

După contagiu, virusul este replicat în epiteliul respirator și se propagă în țesutul limfoid regional unde este replicat în continuare. Replicarea în unele limfocite favorizează diseminările hematogene ale virusului. Viremia primară diseminează virusul în sistemul reticuloendotelial iar viremia secundară în tegument, tractusul respirator și conjunctivă. Replicarea virusului rujeolei determină leziuni care conțin sinciții, nucleocapside și antigene virale. Pacienții elimină virusul prin lacrimi, secreții nasofaringiene și urină cu 2-4 zile înaintea debutului bolii și 5 zile după apariția erupției.

Rujeola debutează brusc prin febră, coriză, tuse, conjunctivită și apariția petelor lui Koplik. Petele lui Koplik sunt un semn patognomonic, precoce, particularizat prin mici macule, cu centrul alb-albăstrui, pe mucoasa jugală în dreptul molarilor inferiori. Prodromul durează 2-4 zile. Din ziua 5-7 a bolii apare erupția maculo-papulară, care se generalizează centrifug spre extremități (CD 28-1) și care corespunde apariției efectorilor imunitari. După 2-3 zile erupția dispare odată cu febra.

Rujeola are numeroase complicații, unele foarte grave. Complicațiile rujeolei au trei mecanisme patogenice: diverse forme de sensibilizare, deficit imun celular sau suprainfecții bacteriene.

(i) *Complicații imunopatologice.* Însăși erupția rujeolică este expresia unui asemenea mecanism pentru că pacienții cu deficit imunitar fac rujeola fără erupție.

–Encefalita rujeolică apare la 1 din 1000 pacienți. Pentru că virusul este rar izolat din creier, a fost incriminat un mecanism autoimun.

–Panencefalita sclerozantă subacută (PESS). Infecția persistentă abortivă a neuronilor cu o mutantă defectivă a virusului rujeolic transformă celulele, care exprimă pe membrană glicoproteine virale, în ținte de atac ale efectorilor imunitari prin reacții citolitice–citotoxice.

–Sindrom Guillain–Barré

–Copii vaccinați cu un vaccin antirujeolic inactivat care contractau infecția naturală curând după vaccinare făceau forme atipice grave ale bolii. Inactivarea virusului este eficientă asupra glicoproteinei H, dar nu și a celei F, încât la acești copii virusul infecta pulmonul propagat de la celulă la celulă prin fuziune. Reacția virusului din pulmonii cu anticorpii anti–H postvaccinali declanșa, probabil, un fenomen Arthus tradus prin pneumopatie gravă.

(ii) *Complicații prin deficit imun celular.*

–encefalita acută, progresivă și mortală, eventualitate rară, se datorează replicării active a virusului rujeolic în creierul unor copii.

–pneumonia cu celule gigante (sinciții) evoluează de asemenea letal.

(iii) *Complicațiile prin suprainfecții bacteriene*, otite, pneumonii (mai ales cu streptococi β -hemolitici), evoluează grav la copii malnutriți. Peste 90% din mortalitatea ruzeolei este datorată pneumoniilor prin suprainfecție bacteriană.

Imunitatea postrujeolică este persistentă. Primii apar anticorpii anti-proteină N, urmați de cei față de proteinele H și F. Rolul protector al anticorpilor contra ruzeolei rezultă din două observații: (i) anticorpii administrați pasiv protejează de ruzeolă contactii nevaccinați; (ii) în prezența anticorpilor materni evoluția ruzeolei poate fi atipică cu semne prodromale minore, absența petelor Koplik, erupție discretă.

Diagnosticul de laborator al ruzeolei este necesar numai în formele atipice. Virusul poate fi cultivat în celule primare de rinichi uman sau de maimuță. Efectul citopatic apare după 7–10 zile: sinciții și incluziuni citoplasmice și nucleare (planșa 4.4,2). Izolatele sunt identificate prin colorații imunofluorescente sau inhibiția hemadsorbției.

Serologic, valoroasă este ELISA pentru că poate depista anticorpii IgM. Prin reacțiile de fixare a complementului, neutralizare și inhibiție a hemaglutinării trebuie să depistăm seroconversia ori creșterea de cel puțin patru ori a titrului anticorpilor în seruri perechi: primul prelevat 3–4 zile după apariția erupției, al doilea 3–4 săptămâni mai târziu.

Confirmarea PESS impune depistarea anticorpilor antirujeolici în lichidul cefalorahidian.

Tratament antiviral nu există.

Ruzeola este una din bolile cele mai contagioase. Transmiterea se face prin picături Flügge și secreții conjunctivale. Boala survine mai frecvent iarna și spre primăvară. Epidemii de ruzeolă survin cu periodicitate de cca 2 ani în țările fără program național de vaccinare împotriva acestei boli.

Un vaccin viu atenuat administrat generalizat la copii în vârstă de 9–12 luni cu revaccinare înaintea intrării în școala primară previne ruzeola cu eficiență de 90–95%.

28.1.3. Genul *Pneumovirus*

Virusul respirator sincițial (VRS) este antigenic unic și determină 50% din bronșiolitele și 25% din pneumoniile sugarilor sub vârsta de 6 luni.

Contagiul se face prin picături mari de secreții nasofaringiene încât transmiterea prin mâini și obiecte contaminate este mai importantă decât cea aerogenă.

Virusul este inițial replicat în nasofaringe și, prin secreții de la acest nivel, antrenat spre căile respiratorii inferioare. Semnele clinice apar după o incubatie de 4–5 zile, iar bolnavii elimină virusul timp de 1–3 săptămâni. La copilul mare și adult infecția cu VRS evoluează ca o răceală comună.

În ciuda prezenței anticorpilor specifici, reinfecțiile cu VRS sunt frecvente.

Diagnosticul etiologic este important din două motive: evită excesul de antibioticoterapie oarbă și posibilitatea tratamentului antiviral. Dată fiind evoluția acută și gravă a infecțiilor sugarului, primează metodele rapide ale diagnosticului direct: depistarea prin colorație imunofluorescentă a virusului în celulele descumate ale epiteliului respirator sau prin ELISA în secrețiile nasofaringiene.

Boala respiratorie a sugarului determinată de VRS beneficiază de tratament cu ribavirin administrat în aerosoli timp de 3–6 zile.

Infecțiile cu VRS sunt mai frecvente iarna. În creșe și spitale de pediatrie pot evolua ca izbucniri de infecție nosocomială.

Problema unui vaccin anti-VRS eficient și lipsit de riscuri nu este rezolvată.

28.2. VIRUSUL RUBEOLEI ȘI ALTE VIRUSURI TERATOGENE

DUMITRU T. BUIUC

Unele virusuri infectează viremic gravida și se fixează în placentă și embrion. Infecția embrionilor în perioada organogenezei determină avort sau dezvoltarea și nașterea unui copil cu malformații. Asemenea acțiuni au virusul rubeolei, virusurile citomegalic și herpes simplex, virusul Cocksackie grup B și virusul urlian.

28.2.1. Virusul rubeolei

Virusul rubeolei este singurul reprezentant al genului *Rubivirus* din familia *Togaviridae*. Are un singur tip antigenic. Cultivă cu efect citopatic numai în liniile celulare Vero și RK13, respectiv din rinichi de maimuță și iepure, sau în celule amniotice umane. În alte celule cultivă, dar fără efect citopatic, și interferează (☞ Capitolul 4.2.) efectul citopatic rapid al unor enterovirusuri, uzual ECHO 11 sau Cocksackie A9. Dacă virusul indicator nu determină efect citopatic celulele testate replică virusul rubeolei și invers, dacă efectul citopatic este evident virusul rubeolei este absent.

Evoluția infecției cu virusul rubeolei este diferită după cum a fost contractată postpartum sau *in utero*. În prima situație boala o numim simplu rubeolă, în a doua situație vorbim de sindromul rubeolic congenital.

Rubeola

Infecția naturală și patogenia Rubeola a mai fost numită, din cauza unor asemănări patogenetice și clinice cu rujeola, rujeolă germană sau rujeolă de trei zile. Afectează copii și adulți tineri ca boală acută, febrilă, benignă însoțită de erupție și adenită postauriculară și occipitală.

Incubația bolii este de 2-3 săptămâni. Inițial virusul este replicat în epiteliul respirator superior și ganglionii limfatici cervicali. Viremia apare la 5-7 zile după contagiul și persistă până la apariția anticorpilor. Erupția morbiliformă apare odată cu anticorpii și persistă trei zile. Este probabil epifenomenul unei sensibilizări. Unii pacienți prezintă artralгии și artrite reactive, probabil în cadrul aceleiași sensibilizări.

Virusul persistă și se elimină prin secreții nasofaringiene mai multe săptămâni.

Complicații, rare, includ purpură trombocitopenică, encefalite, sindrom Guillain-Barré.

Imunitatea, umorală, este persistentă. Titrul anticorpilor atinge maximul la 1-3 săptămâni după debutul bolii. Anticorpii IgM persistă până la șase săptămâni, cei IgG toată viața.

Diagnosticul de laborator este necesar pentru că simptomatologia bolii este numai sugestivă, fără semne patognomonice. La gravidă diagnosticul de laborator este imperativ pentru decizia corectă asupra avortului.

Examinăm secrețiile nasofaringiene și probe de ser.

Izolarea virusului pe culturi de celule primare renale de maimuță africană verde este confirmată prin interferența cu efectul citopatic al unui enterovirus indicator.

Serologic este utilă ELISA, simplă, rapidă, foarte sensibilă și cu capacitatea de a diferenția anticorpi IgM. Anticorpii IgM anti-rubeolici surprinși pe probă unică de ser sau în intervalul de două săptămâni de la apariția erupției au valoare diagnostică. Testul de referință rămâne însă reacția de inhibare a hemaglutinării, grevată însă de două constrângeri tehnice: necesitatea îndepărtării din serurile testate a inhibitorilor serici nespecfici ai hemaglutinării și

a testării de seruri perechi pentru a surprinde seroconversia sau dinamica semnificativă a anticorpilor.

Tratament antiviral nu există. Rubeola diagnosticată în primele trei luni de sarcină impune avort profilactic contra sindromului rubeolic congenital.

Epidemiologie. Rubeola are răspândire cosmopolită. Rezervor de infecție este bolnavul pe durata incubăției, evoluției clinice și convalescenței; copiii cu sindrom rubeolic congenital. Transmiterea infecției este aerogenă iar receptivitatea generală. Manifestate în tot cursul anului, infecțiile au un vârf de primăvară al incidenței. Evoluția rubeolei este epidemică la intervale de cca 10 ani și pandemică la intervale de 20 – 25 ani.

Profilaxie. Un vaccin viu atenuat este eficient pentru imunizarea prepubertară. La fetele vaccinarea trebuie să fie generală.

Sindromul rubeolic congenital

Patogenie. Viremia din cursul rubeolei la gravide infectează placenta, embrionul sau fătul. Virusul infectează un număr limitat de celule ale produsului de concepție, fără efect citopatic, dar cu reducerea ratei de creștere a celulelor. Efectul este grav în sarcina precoce pentru că perturbă organogeneza. Infecția în prima lună de sarcină determină malformații la 50% din copii, în a doua lună la 20% iar în a treia lună la 4%. Malformațiile apar chiar dacă infecția gravidei a fost asimptomatică.

Copii cu sindrom rubeolic congenital se nasc cu infecție persistentă echilibrată și elimină virusul timp de 1-2 ani prin secrețiile nasofaringiene, urină și fecale. Este de asemenea prezent în lichidul cefalorahidian și numeroase organe. Malformațiile congenitale rubeolice sunt mai frecvent evidente la naștere: cardio-vasculare, oculare, neurosenzoriale, purpură trombocitopenică, anemie, osteită, meningoencefalită. Evoluază cu mortalitate de 20%. Mai rar consecințele devin manifeste la vârsta de 9-12 ani sub forma deficitelor tactile, dificultăților de învățare, dezechilibre, slăbiciune musculară.

Imunitatea. Anticorpilor materni IgG anti-rubeolici se transmit la făt și persistă până la șase luni după naștere. În cazul sindromului rubeolic congenital copiii au o creștere a titrului anticorpilor IgM antirubeolici urmată de creșterea și persistența anticorpilor IgG mult timp după perioada normală de persistență a anticorpilor materni.

Diagnosticul de laborator . Examinăm secreții nasofaringiene, urină, tampon rectal și, în caz de deces, probe necropsice pentru izolarea de virus.

Serologic, depistarea anticorpilor IgM este patognomonică pentru că acești anticorpi nu traversează bariera placentară.

Tratament etiotrop nu există. Unele malformații congenitale pot fi remediate chirurgical.

Epidemiologie. Incidența malformațiilor congenitale rubeolice crește semnificativ în cursul epidemiilor de rujeolă în populații nevaccinate.

Profilaxia. Vaccinarea antirubeolică prepubertară. La gravide vaccinul este interzis. În cazuri excepționale de vaccinare postpubertară sarcina este interzisă timp de trei luni după administrarea vaccinului.

28.2.2. Alte virusuri teratogene

Malformații congenitale după infecții *in utero* mai pot determina: herpesvirusuri, virusul Coxsackie B, virusul urlian.

- Virusul citomegalic determină microcefalie, calcificări periventriculare, atrofie optică, corioretinită, întârziere mentală sau motorie, purpură trombocitopenică.

- Virusul herpes simplex a fost implicat în apariția microftalmiei, microcefaliei, retinopatiei congenitale.
- Virusurile Cocksackie B pot cauza malformații cardiace și miocardită congenitală.
- Virusul urlian a fost corelat cu fibroelastoza endocardică congenitală.

28.3. FAMILIA CORONAVIRIDAE

DUMITRU T. BUIUC

Familia *Coronaviridae* are trei genuri cu numeroase specii care infectează variate vertebrate. Infecția la animalele cu sânge rece poate fi persistentă. Interes medical prezintă genul *Coronavirus* între speciile căruia sunt cuprinse și coronavirusurile umane.

Coronavirusurile au virioni sferici cu diametrul de 120-160 nm, nucleocapsida helicală și anvelopă. Genomul ARM m.c., linear și nesegmentat, cu polaritate pozitivă, este cel mai mare și mai complex între virusurile ARN. Glicoproteinele de anvelopă împart coronavirusurile în hemaglutinante și nehemaglutinante. Comune ambelor grupe sunt o *glicoproteină mică* (G_S), cuprinsă între cele două straturi fosfolipidice ale membranei, interacționează cu nucleocapsida, și o *glicoproteină mare* (G_L), care proemină pe suprafața anvelopei ca spiculi, măciucați sau în formă de petală, evident distanțați între ei. Dispoziția spiculilor dă virionului aspect de coroană (lat. *corona* coroană). A treia glicoproteină, prezentă numai la coronavirusurile hemaglutinante, este o *hemaglutinină cu activitate acetilesterazică* (HE).

Replicarea. Coronavirusurile se fixează prin G_L sau HE, după caz, pe receptori ai celulelor țintă. Receptorii variază de la o specie gazdă la alta. După endocitare și decapsidare, replicarea virusului are loc în citoplasmă. Prima, dintre numeroasele proteine nestructurale, sintetizată este o ARN polimerază-ARN dependentă sub controlul căreia sunt transcrise: matricele ARN cu polaritate negativă, care servesc pentru replicarea genomului, și un grup de 5-7 molecule de ARNm subgenomice. Fiecare moleculă de ARNm subgenomic este tradusă în diferitele componente structurale ale virionului. *Coronavirusurile* se singularizează, între virusurile ARN cu genom nesegmentat, prin frecvența recombinărilor genetice, care sunt răspunzătoare de variațiile antigenice și, posibil, de gazdă (☞ apariția în 2002 a variantei care determină *sindromul acut respirator sever*).

Morfogeneza, cu formarea nucleocapsidelor helicale, are loc în citoplasmă. Virionii se maturează înmugurind prin membranele reticulului endoplasmic rugos și ale apartului Golgi, în zone unde sunt inserate glicoproteine virale. Acumulați la periferia citoplasmei, virionii sunt eliberați prin liza celulei.

Cele două coronavirusuri umane se diferențiază între ele serologic și prin activitatea hemaglutinantă: prototipul pentru grupul nonaglutinant este *Coronavirus* uman 229E (HCV 229E) iar pentru grupul hemaglutinant *Coronavirus* uman OC43 (HCV OC43).

Infecții naturale și patogeneza. Imunitatea și patogeneza infecțiilor cu HCV prezintă încă necunoscute din cauza lipsei unui model experimental animal. Mai multe cunoștințe avem despre coronavirusurile animale.

Coronavirusurile umane se remarcă mai ales prin tropismul pentru epiteliul respirator. În cultura fragmentelor de trahee HCV produc lent pierderea cililor și distrugerea insulară a celulelor ciliate. Observația poate fi extrapolată la infecția *in vivo*.

(1) *Infecții respiratorii.* Mai cunoscut este *sindromul de răceală comună*, cel mai frecvent afebrilă, a adulților. Apare după o incubatie de 4-5 zile și evoluează timp de 7 zile cu simptomatologie similară celei din infecția cu rinovirusuri.

Pneumonii interstițiale benigne au fost ocazional semnalate în colectivitățile de recruți. Din noiembrie 2002 a apărut însă, cu evoluție epidemică și mortalitate considerabilă,

sindromul respirator acut sever (SARS). Cauză a SARS este probabil un recombinant HCV (există și ipoteza originii animale a tulpinii) apărut în China.

(2) *Gastroenterite*. HCV OC43 a fost izolat din scaunul pacienților diareici, dar și din scaunul unor persoane normale. Implicarea acestui virus în etiologia gastroenteritelor este încă nerezolvată.

(3) *Boala neurologică*, determinată la unele animale de coronavirusuri, nu a fost identificată la om.

Imunitatea. Efect neutralizant au anticorpilor față de glicoproteina spiculilor (GL). Anticorpilor IgA secretori par a avea rol important. Oricum imunitatea anti-coronavirus este limitată în timp. Reinfectia cu tulpini asemănătoare este frecventă.

Diagnosticul de laborator. Izolarea HCV în culturi de țesuturi sau organe și identificarea prin imunoelectronmicroscopie sunt de domeniul cercetării științifice.

Antigene ale HCV pot fi identificate prin ELISA în secrețiile respiratorii. Eficiența metodei ține însă de calitatea serurilor imune utilizate.

Serologia prin reacția de hemaglutinare pasivă (limitată la infecții determinate de tulpini 229E), ELISA sau reacția de fixare a complementului rămâne încă singurul mijloc practic de confirmare a infecției cu HCV.

Coronavirusul SARS a fost depistat prin PCR sau izolat din ser sanguin, secreții nasale ori fecale în culturi de celule, iar dinamica semnificativă a anticorpilor surprinsă, în interval de 21 zile de la debutul bolii, prin imunofluorescență indirectă sau ELISA.

Tratament antiviral nu există.

Epidemiologia. Sursa de infecție este umană. Posibilitatea adaptării unor tulpini umane la om a fost luată în discuție abia după apariția SARS. Transmiterea se face prin picături Flüge și prin obiecte contaminate. Receptivitatea este generală.

Coronavirusurile umane determină 15-30% dintre răcelile comune ale adulților, mai ales în lunile de iarnă. Infecțiile sunt semnalate din copilărie iar prevalența anticorpilor ajunge la 90% între adulți.

Epidemiologia posibilelor gastroenterite cu HCV este puțin cunoscută.

Vaccin anti-HCV nu există încă.

„Se pare, domnilor, că această comunicare are o lipsă: n-am vorbit nimic de microbul turbării. Vă mărturisesc că, în ciuda eforturilor, nu l-am văzut niciodată. El însă există. Există probabil, și alții, care scapă deocamdată cercetărilor. Viitorul ne-o va demonstra.”

**LOUIS PASTEUR, Congresul Medical Internațional,
Copenhaga, 10 august 1884**

Virusul rabic este singurul reprezentant cu interes medical al familiei *Rhabdoviridae*, genul *Lyssavirus*. Este un virus ARN cu simetrie helicală. Are anvelopă, formă de obuz și dimensiuni de 75 nm diametru / 180 nm lungime. Pe anvelopă proemină spiculi glicoproteici cu funcție de ligand. Genomul ARN m.c., linear, are polaritate negativă și asociată o ARN polimerază. Dintre cele cinci proteine pe care le codifică, importante sunt glicoproteina de anvelopă (G) și proteina nucleocapsidică (N), ambele antigene care stimulează formarea de anticorpi neutralizanți.

Replicarea. Fixat prin spiculi glicoproteici pe receptori celulari pentru acetilcolină, virusul rabic este endocitat și decapsidat. Genomul este transcris în citoplasmă de ARN polimeraza asociată virionului în cinci molecule de ARNm (câte una pentru fiecare din cele cinci proteine virale) și într-o moleculă ARN mare care folosește ca matriță pentru replicarea genomului. După morfogeneză, nucleocapsida înmugurește prin membrana citoplasmică. În celulele care replică virus rabic apar incluziuni citoplasmice eozinofile numite corpusculi Babeș-Negri.

Sensibilitatea la factorii de mediu. Virusul rabic este rapid omorât prin expunere la lumină solară, radiații ultraviolete, căldură (o oră la 50° C căldură umedă), solvenții lipidelor, detergenți, tripsină, pH extrem. Supraviețuiește săptămâni la 4°C, dar este omorât la concentrații mari ale CO₂.

Virusul rabic cultivă în culturi de celule diploide umane ori animale (e.g., din rinichi de hamster nou-născut); în embrioni de rață sau găină; animale de laborator (e.g., șoarece alb, iepure).

Tulpinile proaspăt izolate în laborator le numim „virus de stradă” (sălbatic); produc boala după incubatie lungă, de 21-60 zile la câini. Sunt replicate cu formare constantă de corpusculi Babeș-Negri în neuroni. Pasajul seriat creier-creier la iepuri duce la apariția virusului rabic „fix” care este replicat în neuroni, produce boala după incubatie constantă de 4-6 zile, iar corpusculii Babeș-Negri sunt greu de observat.

Gazde naturale pentru virusul rabic sunt animalele cu sânge cald. La animalele infectate virusul este larg răspândit în țesuturi și umori: sistem nervos, salivă, urină, lapte, sânge și limfă. În general, infecția este mortală pentru animale. Excepție fac unii lilieci, la care virusul este în mod particular adaptat la replicarea în glandele salivare. La om nu a fost izolat niciodată din sânge sau celule sanguine.

Patogenitatea naturală și patogeneză. Rabia, numită și turbare, este transmisă prin mușcătura animalelor care elimină virusul prin salivă, ca și prin zgârieturi cu gheare contaminate cu salivă. Infectarea prin aerosoli este posibilă la persoane care pătrund în colonii de lilieci.

Virusul este replicat în mușchii și țesutul conectiv de la nivelul mușcăturii, invadează sistemul nervos central pe cale centripetă. Replicat intens în neuroni, difuzează centrifug prin nervii periferici către glandele salivare, alte glande și țesuturi.

Congestie și distrugerii neuronale se produc în scoarța cerebrală, cerebel, hipocamp și ganglionii spinali. Coarnele posterioare ale măduvei sunt sever afectate prin neuronofagie și infiltrat inflamator. Replicarea virusului produce necroză și infiltrat inflamator în glandele salivare, alte glande și cornee.

Incubația rabiei la om este de 2-16 săptămâni, dar poate fi și de 10 zile până la un an. Cum propagarea virusului rabic prin nervi este de aproximativ 3mm/oră, legat de lungimea căii nervoase parcurse de virus și de numărul terminațiilor nervoase din plăgile mari, incubația este mai scurtă la copii, mai scurtă în mușcăturile feței și gâtului, respectiv mai scurtă și cu evoluție mai gravă a bolii după mușcăturile de lup.

Rabia evoluează în trei stadii: prodromal, de excitație și paralytic. La om:

Prodromul durează 2-10 ore în care bolnavii au tulburări de caracter, cefalee, indispoziție, febră, grețuri și vărsături. Acuză precoce senzații anormale la nivelul plăgii: arsuri, dureri intermitente, hiperestezie. Au vocea răgușită, hipersalivație, disfagie.

În faza de excitație apar hidrofobia și aerofobia. Un spasm dureros al mușchilor deglutiției induce teama de a înghiți: saliva li se scurge din gură; spasmul poate fi declanșat la vederea sau auzul apei care curge. Spasme laringiene sunt declanșate prin curenți de aer. Bolnavii au hiperestezie, hiperacuzie, hiperosmie, fotofobie, insomnie. Frecvent fac crize de furie.

În final se instalează *paralizii*.

Moartea survine după 3-5 zile de la debutul bolii.

Rabia poate evolua paralytic de la început, mai ales când este transmisă prin mușcătura liliecilor vampir.

La câini incubația este de 3-8 săptămâni, dar poate fi și de 10 zile. În faza prodromală animalul își schimbă brusc comportamentul și este febril. În faza de excitație, următoarele 3-7 zile, devine iritabil, agresiv, cu tendință de a mușca, are disfagie și crize convulsive. În final apar paralizia generalizată, coma și moartea.

Imunitatea antirabică este asigurată de anticorpii IgG neutralizanți în special față de antigenul glicoproteic. Este considerată mai eficientă în stadiul precoce al infecției, adică înainte de antrenarea virusului în nervii periferici.

Investigații în ariile cu rabie enzootică au arătat că o mică proporție din vulpile, sconeșii ori ratonii aparent sănătoși au anticorpi neutralizanți antirabici, probabil ca urmare a expunerilor prealabile la virus. Printre manguste această proporție ajunge până la 40% și urmează fluctuațiile enzootiei. Răspunsul imun influențează receptivitatea, incubația, tabloul clinic și vindecarea (înaintea debutului, rar după apariția semnelor clinice).

Dozarea anticorpilor neutralizanți anti-virus rabic este metodă importantă de apreciere a eficienței unui vaccin antirabic.

Omologiile antigenice între tulpinile de virus rabic sunt de 90%. Doar virusul izolat de la lilieci este relativ heterogen fiind periculos pentru inițierea la animalele terestre a unei enzootii care nu poate fi controlată de tulpinile vaccinante actuale.

Diagnosticul de laborator. Diagnosticul direct este o urgență. Examinăm, funcție de talia animalelor, piese necropsice sau organe integrale: creier, măduva spinării, glandele salivare, cornee.

Microscopia directă. Examinăm amprente din creier (cornul lui Amon), măduva spinării, cornee. Oferă rezultate rapide prin depistarea corpusculilor Babeș-Negri în neuroni

Virusul rabic

cornului lui Amon. Colorația imunofluorescentă este mai specifică și mai sensibilă. Depistarea antigenică poate fi făcută cu mare sensibilitate și specificitate prin ELISA.

Izolarea virusului o putem face din prelevatele *postmortem* precizate mai sus ori saliva prelevată *intravital*.

Gazda de laborator cea mai sensibilă este șoricelul sugar. Manifestările infecției (paralizii spastice) apar în interval de 3 săptămâni. Dar depistarea virusului poate fi făcută și mai repede prin colorarea imunofluorescentă a amprentelor de creier.

Izolarea în culturi de celule este mai rapidă (2-4 zile) iar identificarea izolatelor poate fi făcută prin reacții de neutralizare ori colorație imunofluorescentă.

Serologia are valoare redusă dată fiind evoluția acută, rapid și inexorabil mortală a bolii. Sunt semnificativi anticorpii depistați în probă unică de ser prin reacție de neutralizare, imunofluorescență indirectă ori ELISA față de antigenul glicoproteic.

Tratament antiviral nu există. Apelăm la sero- și vaccinoterapie în funcție de categoria animalului mușcător:

(1) Aparent sănătoase și posibil de observat timp de 10 zile: expectativă, după spălarea urgentă a plăgii cu apă și săpun și infiltrație locală cu imunoglobulină umană antirabică pentru îndepărtarea și respectiv neutralizarea eventualului virus.

(2) Bolnave sau suspecte de rabie ori dacă rabia a fost diagnosticată prin laborator la animalul sacrificat imediat după agresiune: măsurile urgente de la (1) urmate de vaccinare antirabică imediată.

(3) Animalul mușcător dezvoltă în cursul observației semne de rabie ori dacă rabia a fost diagnosticată prin laborator la animalul sacrificat imediat după agresiune: măsurile de la (1) trebuie completate cu cele de la (2).

(4) Animalul mușcător este vagabond, necunoscut ori sălbatic: imediat măsurile de la (2)

Utilizarea imunoglobulinei antirabice umane este de dorit, în lipsă, și dacă pacientul nu este sensibilizat, poate fi folosit serul antirabic preparat pe cal.

Clasicul vaccin pasteurian preparat din țesut nervos infectat cu virus rabic „fix” nu mai este folosit. În prezent folosim vaccinul preparat pe culturi de celule diploide umane (5 doze intramusculare în zilele 0, 3, 7, 14 și 28) sau vaccinul preparat pe embrionii de rață decapitați (23 doze subcutanate). Dacă persoana mușcată are antecedente de vaccinare antirabică, schema de imunizare trebuie modificată.

Epidemiologie. Grupe de risc pentru rabie sunt: lucrători cu animale posibil bolnave; speologi sau constructori ce pătrund în peșteri; personal din laboratoare de diagnostic sau vaccinuri. Virusul este vehiculat de foarte multe animale: sălbatic (e.g., lilieci, sconeși, ratoni, coioți, vulpi, lupi) sau domestice (e.g., câini, pisici, șeptel – bovine, caprine, ovine).

Transmiterea bolii: (i) În 99% din cazuri prin mușcătura animalului bolnav care inoculează virusul odată cu saliva. (ii) Liliecii fac o formă asimptomatică și transmit virusul prin aerosoli. (iii) Transplant de cornee (doar 6 cazuri documentate).

Riscul de a contracta boala este de: 60% dacă plaga mușcată este la cap; 15-40% la nivelul extremităților superioare; 10% la nivelul extremităților inferioare.

Profilaxie. Imunoprofilaxia vizează:

(i) Persoanele cu risc crescut de a contracta boala: îngrijitori de animale, personalul laboratoarelor de profil, veterinari, vânători. Schema vaccinoprofilaxiei este diferită de cea a vaccinoterapiei.

(ii) Câinii utilitari ori de agrement și pisicile. A fost încercat un vaccin oral adsorbit pentru vaccinarea vulpilor.

Familia *Parvoviridae* reunește cele mai simple virusuri ADN animale. Au virion nud cu diametrul de 18–26nm. Capsida icosaedrică este formată din două proteine. Genomul ADN m.c., linear, cu polaritate negativă este format din 4–6 kb, practic echivalentul unei singure gene.

Sunt replicate în nucleul celulelor gazdă pe care le pot infecta productiv sau persistent și latent. Unele se pot replica independent, altele sunt virusuri defective replicate numai în prezența unui virus asociat (mai frecvent un adenovirus). Parvovirusurile defective sunt reunite în genul *Dependovirus*.

Tropism uman au numai parvovirusul B₁₉, unicul reprezentant al genului *Erythrovirus*, și virusurile adeno–asociate 1, 2, 3 și 5 din genul *Dependovirus*.

30.1. VIRUSUL B₁₉

Infecția naturală și patogeneză. Virusul B₁₉ are ca țintă celulele imature, în diviziune activă, ale liniei eritroide pe care le infectează cu efect letal în infecția productivă.

După contagiul natural, aerogen, virusul B₁₉ este inițial replicat în tractusul respirator și generează o viremie primară urmată de localizarea infecției mai ales în măduva osoasă. Viremia este întreținută de celulele eritroide precursori, care replică și eliberează virus. După apariția anticorpilor, complexe imune circulante sunt responsabile pentru anumite leziuni și semne ale bolii. Vindecarea clinică este urmată de infecție persistentă.

Manifestările clinice variază de la o boală minoră cu alură gripală până la boli cu o anumită gravitate.

(i) *Îmbolnăvirea cu alură gripală* se datorează replicării virusului în tractusul respirator și însoțește viremia. Pacienții acuză stare de rău, cefalee, frisoane, mialgie și au semne de faringită. Aceste manifestări pot fi unice sau pot constitui debutul altor forme clinice de infecție.

(ii) *Megaleritemul epidemic sau a 5–a boală eruptivă* afectează mai frecvent copiii de vârstă școlară și, ocazional, adulți tineri. Infecția adultului se însoțește și cu artropatii, mai frecvent ale mâinii și genunchiului. Erupția și artropatiile sunt expresia sensibilizării prin complexe antigen–anticorp. Această formă a infecției cu virusul B₁₉ evoluează benign.

(iii) *Artropatii* pot să apară și independent de erupție.

(iv) *Crizele eritroblastice tranzitorii*, manifestate prin sindrom hemolitic brutal, apar când infecția evoluează la pacienți cu anemii hemolitice cronice, ca anemia falcipară.

(v) *Embriofetopatie* cu anemie hemolitică gravă, edem generalizat și moartea fătului poate să apară în eventualitatea, relativ rară, de infecție a gravidei. Moartea fătului se produce în mai puțin de 10% din infecțiile primare ale gravidei cu virus B₁₉.

(vi) *Infecția la pacienți imunodeficienți* determină anemie cronică sau aplastică.

(vii) *Infecția persistentă*. După vindecarea clinică, în ciuda imunității antivirale demonstrate, virusul B₁₉ infectează persistent măduva osoasă luni sau ani de zile. Probabil este o stare de portaj în anumite celule și infecție integrată, pentru că o viremie corespunzătoare la 10^2 – 10^3 copii genomice/mL ser poate fi detectată numai prin cele mai sensibile metode.

În condițiile unui deficit imun (e.g., imunosupresia pentru transplant de organ sau măduvă, sau cea care însoțește chimioterapia cancerului) infecția persistentă cu virus B₁₉ se reactivează sub forma unei anemii cronice inexplicabile sau chiar a unei anemii aplastice.

Diagnosticul de laborator. Sonde ADN pot depista virusul B₁₉ în serul sanguin, leucocite, probe biopsice și secreții respiratorii. Detecția anticorpilor IgM anti-virus B₁₉ indică infecția primară recentă. Anticorpilor IgG anti-virus B₁₉ persistă ani după infecție.

Izolarea virusului este posibilă numai în puține laboratoare din lume.

Tratament nu există.

Epidemiologie. Rezervorul de infecție este uman. Transmiterea se face aerogen sau prin transfuzii de sânge. Dacă în serul pacienților infectați cronic viremia este de numai 10^5 – 10^{10} genome/mL, în infecția primară acută ea atinge 10^{10} – 10^{14} genome/mL. Receptivitatea este generală.

Multe infecții evoluează subclinic. Cel mai frecvent infecția cu virusul B₁₉ apare în izbucniri epidemice printre școlari, dar se poate manifesta, sporadic sau epidemic, la toate grupele de vârstă.

Până la 60% dintre adulți au anticorpi anti-virus B₁₉, ca urmare a infecțiilor contractate mai ales între vârstele de 5 și 19 ani.

Profilaxie. Vaccin nu există. Se impune triajul donatorilor de sânge, de măduvă osoasă sau organe. Protecție anti-epidemică trebuie asigurată personalului care îngrijește pacienți cu crize de anemie aplastică și pacienți imunodeficienți infectați cronic cu virusul B₁₉.

30.2. DEPENDOVIRUSURILE UMANE

Experiența infecțioasă cu adenovirusurile asociate (AAV) este frecventă. Până la 80% din populație are anticorpi contra serotipurilor AAV₁, AAV₂, AAV₃ și AAV₅. Majoritatea infecțiilor sunt contractate între vârsta copilăriei și a adultului tânăr și paralelizează rata înaltă a infecțiilor adenovirale la aceste grupe de vârstă. Nici un sindrom clinic nu a fost asociat infecției cu AAV.

Prin amplificare genică (PCR) au fost găsite genome AAV₂ în peste 50% din biopsiile de mucoasă uterină, ceea ce poate semnifica o infecție latentă. Mari cantități de ADN ale acestui virus au fost găsite în avortonii din primul trimestru, nu însă și în cei din trimestrele II și III ale sarcinii. Comparativ cu loturi martor, femeile cu avort sau neoplazii cervicale uterine intraepiteliale au o incidență semnificativ superioară a titrurilor mari de anticorpi IgM anti-AAV₂. Posibil ca modificările hormonale și depresia fiziologică a imunității celulare proprii sarcinii să reactiveze infecții cu virus citomegalic sau herpes simplex care, la rândul lor, declanșează replicarea virusurilor adenoasociate.

Termenul a fost introdus în 1956 pentru a desemna un agent infecțios izolat de la nivelul foliculilor adenoidieni și asociat cu izbucniri epidemice de boli respiratorii, în unități de recruți.

Structură: sunt virusuri ADN, nude, cu diametrul de 70-90 nm și simetrie icosaedrică. Capsida are 252 capsomere dintre care 240 hexone și 12 pentone prevăzute cu câte o prelungire fibrilară, numită fibra pentonei cu rol de ligand (planșa 4.1,1,2,3). Genomul ADN este dublu catenar, linear.

Hexonii sunt antigene fixatoare de complement, care clasifică adenovirusurile în șase grupe antigenice (notate de la A la F). Pentonele și fibra pentonei sunt hemaglutinine; prin RIH și reacția de neutralizare s-au pus în evidență 47 serotipuri de adenovirusuri umane.

Replicare. Adenovirusul se atașează prin fibrele pentonei la receptorii celulelor receptive după care este endocitat, pierzându-și pentonele și fibrele lor. Decapsidarea începe în citoplasmă și continuă în nucleu, unde ADN-ul este eliberat și transcris asimetric pentru a forma ARNm. Replicarea genomului are loc în nucleu, iar sinteza proteică în citoplasmă. Una din cele 20 proteine precoce, nonstructurale, inhibă rapid sintezele proteice proprii celulei gazdă. După sinteza proteică tardivă începe în citoplasmă morfogeneza virionilor care se termină în nucleu.

Boli și patogeneză. Adenovirusurile infectează celulele epiteliale ale mucoaselor tractusului respirator și digestiv. După replicarea locală, viremia cu afectarea a diferite organe este posibilă mai ales la imunosupresați. Au afinitate pentru țesutul limfatic pe care îl pot infecta latent, cu posibilă reactivare după infectarea gazdei cu un alt microorganism sau prin imunosupresie.

Localizări ale infecției: Adenovirozele pot afecta: aparatul respirator, ocular, tractusul digestiv, urinar, genital, tegumentele, mușchii, sistemul nervos central.

(1) *Infecții respiratorii:*

(i) La copii determină boli respiratorii cu severitate medie manifestate prin febră, coriză, tuse. Serotipul 7 poate determina infecții severe cu evoluție spre pneumonie, mai ales la copii mici. Infecții generalizate cu serotip 9 la nou-născuți sunt citate în literatură ca fiind însoțite de creșterea proteinei C reactive.

(ii) La copiii mari și adulții tineri izbucniri epidemice sunt cunoscute în unitățile de copii cu circuit închis. Pot afecta 30-80% dintre recruții unităților militare. Serotipurile 4, 7,

Adenovirusurile

14, 21 au fost cele mai frecvent semnalate. Aproximativ 2% dintre pacienți necesită spitalizare.

(2) Infecții oculare:

(i) Serotipurile 8, 3, 4, 7, 19, 37 determină conjunctivită foliculară epidemică sau sporadică. Poate fi legată de scăldatul în piscine, de unde și denumirea de „conjunctivită de piscină”.

(ii) Keratoconjunctivită epidemică: serotipuri 8, 19.

(3) Alte infecții adenovirale:

(i) Diaree determinată de serotipuri din grupul F (40, 41 și 42). În ultimii ani au fost descoperite șase serotipuri noi (42-47), cinci dintre ele (43-47) fiind izolate din scaunul pacienților cu SIDA. Toate cele 6 serotipuri au fost izolate însă și de la copii sănătoși. Replicarea locală la nivelul intestinului determină o diaree cu severitate medie însoțită de: grețuri, vărsături, diaree, astenie.

(ii) Adenovirusul serotip 11 și 21 a fost asociat cu cistite hemoragice mai ales la băieți de vârstă școlară; sunt semnalate, de regulă, la transplantatii renali sau de măduvă.

(iii) Sindromul tip „pertussis”.

(iv) Mai pot fi afectate musculatura, tractusul genital (cervicite, uretrite), tegumentul sau sistemul nervos central.

(v) Tipurile 12, 18, 31 sunt recunoscute experimental ca oncogene pentru hamsterul nou-născut. Virusul nu mai poate fi reizolat din țesutul tumoral pentru că ciclul de replicare este abortiv: se sintetizează ADN viral, ARNm și un antigen tumoral dar nu capsidă și virioni progeni.

Imunitatea este asigurată de anticorpi neutralizanți, specifici de tip, care persistă probabil toată viața. Anticorpul matern protejează nou-născutul și sugarul de infecțiile respiratorii grave.

Diagnostic de laborator. Dispunem de metode rapide, dar metoda de referință rămâne izolarea și identificarea adenovirusurilor.

În funcție de sindromul clinic **examinăm**: tampon faringian, conjunctival, rectal, fecale, urină. **Metodele rapide** includ: imuno-electronmicroscopia (mai ales pentru examinarea fecalelor), colorația imuno-fluorescentă, EIA ș.a. Cea mai sensibilă este amplificarea genică (PCR). Testele rapide enumerate nu diferențiază între statusul de „bolnav” sau „purător”.

Pentru **izolarea** adenovirusurilor cele mai sensibile, dar greu accesibile, sunt culturile primare din rinichiul de embrion uman. Cultivă și pe liniile HeLa, HEp2 ori KB. Linia celulară 293 (celule transformate de către adenovirusuri) permite cultivarea adenovirusurilor 40 și 41, serotipuri uzual necultivabile. Rotunjirea și agregarea celulelor apar după 1-4 săptămâni. Supernatantul culturii conține virus și antigene virale care pot fi **identificate** prin reacția de neutralizare sau inhibare a hemaglutinării.

Virusul din leziuni oculare, pulmonari ori tractusul genital are semnificație pentru boala actuală. Din cauza persistenței virusului în intestin ori țesutul limfoid cu recrudescențele replicării induse de alte infecții, izolarea adenovirusurilor din fecale ori tamponul faringian trebuie interpretată prudent, numai în contextul clinic (pacienți cu gastroenterită etc.).

Serologic. Dinamica semnificativă a anticorpilor fixatori de complement cu specificitate de grup indică infecția actuală cu un adenovirus al cărui tip poate fi stabilit prin reacție de neutralizare sau inhibare a hemaglutinării.

Tratament antiviral nu există.

Epidemiologie. Adenovirusurile au o răspândire cosmopolită și par a fi transmise mai frecvent pe cale fecal-orală decât respiratorie; calea respiratorie este mai importantă pentru serotipurile cu număr mic. Sezonalitatea îmbolnăvirilor este unanim recunoscută: multe dintre epidemiile de febră faringoconjunctivală ce afectează școli întregi izbucnesc vara; dimpotrivă,

în unitățile de recruți, epidemiile sunt aproape exclusiv iarna. Infecțiile afectează copiii precoce: până la vârsta de 5 ani aproape toți copiii prezintă anticorpi cel puțin față de un serotip. Adenovirusurile determină cel puțin 10% dintre infecțiile febrile ale căilor respiratorii și până la 20% din infecțiile tractusului respirator superior.

Profilaxie. Vaccinarea a fost folosită cu oarecare succes pentru prevenția infecției; deși s-au utilizat ambele tipuri de vaccin, cel atenuat ar conferi o protecție mai bună. Variante de trivaccin: 4, 7, 21 sau 3, 4, 7 sunt utilizate pentru unitățile militare, deoarece infecția cu aceste serotipuri poate afecta până la 70% dintre recruți.

32.1. CARACTERE GENERALE

Minidefiniție. Familia *Herpesviridae* reunește virusuri mari, sferice, cu diametrul de 120-200 nm. Nucleocapsida icosaedrică este formată din 162 capsomere și conține genomul ADN d.c. linear cu 120-240 kb. Au anvelopă pe suprafața căreia proemină glicopeptidele virale ca spiculi cu lungime de cca 8 nm. Particulară herpesvirusurilor este evoluția infecției primare acute în infecție persistentă integrată cu posibilă reactivare.

Clasificare. Din cele peste 100 de herpesvirusuri găzduite de variate animale, numai 8 infectează omul și sunt cuprinse în trei subfamili, *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* și *Gammapherpesvirinae*, care diferă prin durata ciclului de creștere, efectul citopatic (ECP), tropismul celular al infecției (tabelul 32-1).

Tabelul 32-1 Herpesvirusurile umane

Subfamilia	Ciclul replicativ	ECP	Infecția persistentă	Numele Oficial (comun)	Abreviat
<i>Alphaherpesvirinae</i>	Scurt	Citolitic	Neuroni	Herpesvirus uman 1 (v. Herpes simplex tip 1)	VHS-1
				Herpesvirus uman 2 (v. Herpes simplex tip 2)	VHS-2
				Herpesvirus uman 3 (v. Varicella zoster)	VVZ
<i>Betaherpesvirinae</i>	Lung	Citomegalic	Glande - rinichi	Herpesvirus uman 5 (v. Citomegalic)	VCM
				Herpesvirus uman 6	VHU-6
				Herpesvirus uman 7	VHU-7
<i>Gammapherpesvirinae</i>	Variabil	Limfo-proliferativ	Țesut limfoid	Herpesvirus uman 4 (v. Epstein-Barr)	VEB
				Herpesvirus uman 8 (v. asociat sarcomului Kaposi)	VHU-8 (VHSK)

Replicarea. După fixarea pe receptori celulari specifici, fuziunea anvelopei cu membrana citoplasmică permite endocitarea nucleocapsidei. Decapsidarea se produce într-un por al membranei nucleare. ADN viral se circularizează în nucleu. Genomul herpesvirusurilor codifică cel puțin 100 proteine dintre care cel puțin 35 sunt structurale. Mesajul genetic este transcris și tradus în cascadă. Genele exprimate cel mai precoce codifică proteinele α , care induc expresia altor gene precoce translate în proteinele β . Proteinele α și β sunt mai ales enzime care controlează replicarea genomului viral ori proteine asociate ADN. Proteinele γ sunt proteine tardive, structurale. Replicarea herpesvirusurilor inhibă replicarea ADN și sinteza proteică proprii celulei gazdă. Morfogeneza herpesvirusurilor are loc în nucleu iar maturarea prin membrana nucleară (planșa 4.4,6). Din numărul mare de enzime implicate în replicarea herpesvirusurilor, unele sunt bune ținte pentru chimioterapicele antivirale.

Particulară herpesvirusurilor este evoluția infecției primare acute în infecție persistentă integrată cu reactivări, mai ales la gazda imunocompromisă.

32.2. VIRUSURILE HERPES SIMPLEX (VHS)

Aceste virusuri sunt larg răspândite în populațiile umane. Spectrul gazdelor de laborator include variate tipuri de culturi celulare ori animale de laborator. Dintre cele două tipuri ale virusului herpes simplex, VHS-1 este transmis prin contact, uzual cu saliva infectată, iar VHS-2 este transmis sexual sau ca infecție neonatală de la mama cu leziuni genitale.

(1) **Infecția naturală și patogeneza infecțiilor cu VHS.** Deoarece VHS cauzează infecție citolitică, leziunile în cursul bolii apar prin necroza celulelor infectate și inflamația consecutivă. Leziunile produse de VHS-1 și VHS-2 la nivelul pielii și mucoaselor sunt identice. În infecția primară leziunile sunt mai extinse decât în cea recurentă.

Efectul citopatic include balonizarea celulelor infectate cu formarea de sinciții. În nucleu cromatina este marginată și apar incluziuni Cowdry. În preparatele colorate cu hematoxilină-eozină, incluziunile Cowdry inițiale (tipul A) umplu nucleul până la cromatină și sunt albastre, bazofile; ulterior se retractă, pierd ADN-ul, devin roze și înconjurate cu un halou necolorat (tipul B).

Acumularea de exsudat între epiteliul pavimentos stratificat și derm sau corionul mucoaselor formează vezicule. Fluidul veziculelor conține virioni, celule inflamatorii și resturi celulare. După ruperea veziculelor pe tegument rămân cruste iar pe mucoase ulceratii. Leziunile se vindecă fără cicatrice.

Infecția primară. După contact cu un excretor de virus, VHS ajunge pe o mucoasă sau pe tegument. Tegumentul intact este impenetrabil pentru VHS; trebuie să existe o leziune, uneori simplă macerare cu escoriație epidermică.

Prin formarea sincițiilor VHS se răspândește de la celulă la celulă, pe tegument și mucoase, iar prin neuroni ajunge, centripet, la ganglionii rădăcinilor dorsale: VHS-1 în ganglionul nervului trigemen și VHS-2 în ganglionii nervilor sacrați.

Infecția latentă. În stare nonreplicativă VHS persistent integrat în neuroni exprimă puține gene. Infecția persistă toată viața.

Reactivarea infecției. Peste 80% din populație este infectată latent cu VHS. Nu cunoaștem de ce, în ciuda imunității umorale și celulare, unele persoane fac reactivări, altele nu. Virusul reactivat se propagă centrifug, pe cale nervoasă, spre epiteliul zonei inervate de trigemen – VHS-1 (CD 32-1) ori nervii sacrați – VHS-2 (CD 32-2). Multe recurențe sunt asimptomatice, însoțite numai de eliminarea virusului prin secrețiile orale sau genitale. Stimulii inductori ai reactivării sunt febra, pneumoniile bacteriene acute, radiațiile ultraviolete, stresul.

Forme clinice determinate de VHS-1 sunt:

(i) *Boala orofaringiană*. La copii până la vârsta de 5 ani este frecvent manifestă. Mai târziu multe infecții pot fi subclinice. După incubatie de 2-12 zile (în medie 3-5 zile), boala se manifestă prin: febră, gingivo-stomatită și faringită veziculară, limfadenită cervicală. După 2-3 săptămâni survine vindecarea clinică.

Boala recurentă se manifestă numai cu un buchet de vezicule labiale, inițial foarte dureroase. Evoluția leziunilor este spre pustule și cruste cu vindecare în 8-10 zile.

(ii) *Keratoconjunctivite*. Keratite recurente pot duce la orbire prin opacifierea corneei.

(iii) *Herpesul cutanat* apare în zone cu abraziuni (degetele dentiștilor; variate localizări la luptători). La pacienții cu eczeme, arsuri boala evoluează grav, cu leziuni extensive, febră, eventual deces.

(iv) *Encefalite herpetice* sunt uzual mortale.

Virusul herpes simplex tip 2 determină:

(i) *Herpesul genital* cu leziuni veziculo-ulcerative foarte dureroase ale penisului, cervixului uterin, vaginului, vulvei, perineului. Pot fi însoțite de febră, disurie, limfadenită inghinală. Boala evoluează spre vindecare în cca trei săptămâni.

(ii) *Herpesul neonatal* poate fi contractat *in utero*, *intra-* sau *postpartum*. Evoluează grav cu mortalitate de cca 50%. Unele cazuri pot fi determinate și de VHS-1.

(2) Imunitatea antiherpetică este celulară. Anticorpilor umorali, deși prezenți, nu previn infecția recurentă din cauza propagării virusului direct de la celulă la celulă sau intraneuronal. Celulele NK și interferonii sunt implicați în controlul infecției primare și a recurențelor.

Leziunile herpesului recurent, deși similare cu ale herpesului primar, afectează arii mai restrânse și se vindecă mai repede. Infecția primară cu VHS-2 la o gazdă anterior infectată cu VHS-1 evoluează mai benign, posibil din cauza înrudirii antigenice dintre cele două virusuri.

Herpesul la gazde imunocompromise (SIDA, imunosupresie pentru transplant de organ, hemopatii maligne) evoluează foarte grav, uzual recurent, cu leziuni ale tractusului respirator, esofagiene și intestinale.

(3) Diagnosticul de laborator. *Microscopia uzuală* a raclatului sau tamponului prelevat de la baza leziunilor este sugestivă când observăm celule gigante multinucleate cu incluziuni Cowdry.

Pentru *diagnosticul rapid* în biopsiile cerebrale recurgem la colorație imuno-fluorescentă, sonde ADN sau reacția de amplificare genică (PCR).

Virusurile herpes simplex pot fi *izolate* în variate culturi de fibroblaști ori celule epiteliale. Examinăm: prelevate din veziculele cutanate ori mucoase, spălătură faringiană, fecale, LCR, probe biopsice ori necropsice de creier. Efectul citopatic (rotunjirea și balonizarea celulelor) apare după câteva zile. *Identificarea virusului* izolat poate fi făcută prin reacție de neutralizare ori colorație imunofluorescentă. Utilizarea reacțiilor cu anticorpi marcați poate depista și identifica virusul înaintea apariției ECP.

Serodiagnosticul este util numai pentru diagnosticul infecției primare pe baza seroconversiei sau creșterii de cel puțin patru ori a titrului anticorpilor în serul tardiv față de cel precoce. Pot fi folosite ELISA, RFC sau reacția de neutralizare.

(4) Tratamentul. Aciclovirul este chimioterapeuticul de elecție. Vidarabina este mai toxică; poate fi folosită în infecțiile cu tulpini rezistente la aciclovir.

(5) Epidemiologie. Răspândirea VHS este cosmopolită iar omul singurul rezervor de infecție. Calea de transmitere am văzut că diferă între VHS-1 și VHS-2.

Incidență mai mare are infecția cu VHS-1 față de care 70-90% dintre adulți au anticorpi. Cele mai multe infecții sunt contractate între vârsta de 6 luni și 3 ani. În cursul reactivărilor 1-5% din adulți excretă virus în absența oricărui semn clinic.

Incidența infecției cu VHS-2 este mai mare în colectivitățile cu standard igienico-sanitar redus și educația deficitară decât în cele cu bune condiții economice și culturale.

(6) Profilaxia. Cercetări pentru un vaccin antiherpetic sunt în curs. Direcțiile de cercetare vizează un vaccin glicopeptidic de anvelopă purificat, tulpini genetic modificate prin clonarea unei gene care codifică o glicoproteină imunizantă. Ar fi utile numai pentru prevenția infecției primare.

Nou-născuții și pacienții cu eczemă trebuie protejați de expunere la persoane cu leziuni herpetice.

32.3. VIRUSUL VARICELA-ZOSTER (VVZ)

Numele acestui virus a rezultat din asocierea numelui celor două boli pe care le produce: *varicela*, primoinfecția acută, și *herpes zoster*, rezultat prin reactivarea infecției. Morfologic este identic cu VHS. Cultivă în celule embrionare umane cu ECP mai localizat și mai lent decât al VHS. Incluziunile sunt tipice.

(1) Infecții naturale și patogenează. Infecția primară, **varicela** este contractată aerogen prin mucoasa tractusului respirator sau prin conjunctivă. În organism difuziunea infecției este hematogenă. După mai multe cicluri replicative virusul se localizează în tegument, mucoase și diferite organe țintă, în raport cu reactivitatea gazdei.

După o incubatie de 14-21 zile, boala debutează cu exantem și enantem vezicular inițiat prin infectarea endoteliului capilar, cu tumefierea, degenerarea balonizantă a celulelor și acumularea de exsudat în epiteliul pavimentos stratificat. Veziculele apar în valuri succesive timp de 3-4 zile după debut încât le observăm concomitent în toate stadiile evolutive: maculo-papular, vezicular, cruste fără formarea de cicatrice (CD 32-3). Febra însoțește erupția și variază cu intensitatea exantemului.

La copii malnutriți și la adulți evoluția bolii este severă din cauza frecvenței cu care apar complicații: pneumonii interstițiale ori interesarea sistemului nervos central prin encefalite, meningite, mielite, sindrom Guillain-Barré, leziuni particularizate prin prezența celulelor gigante multinucleate.

Primoinfecția gravidelor expune fătul riscului infecțios *in utero* și neonatal (☞ Capitolul 28.2.). Infecția neonatală evoluează cu leziuni grave ca și cea a adultului.

Infecția latentă. Deși replicarea și difuziunea VVZ în organism sunt limitate prin producerea de interferon și efectori imunitari, virusul se propagă pe cale nervoasă centripetă în neuronii ganglionilor spinali și ai nervilor cranieni pe care îi infectează persistent integrat.

Herpesul zoster apare prin reactivarea infecției persistente cu VVZ a neuronilor ganglionari. Cel mai frecvent reactivarea interesează neuronii unui singur ganglion, iar virusul se propagă centrifug în metamerul cutanat respectiv: al unui nerv intercostal ș.a. (CD 32-4). Leziunile cutanate sunt similare celor din varicelă sau herpes simplex, dar inflamația acută concomitentă a nervului senzitiv și ganglionului fac leziunile foarte dureroase. Cauzele reactivării nu le cunoaștem. La imunodeficienți reactivarea interesează mai mulți nervi iar leziunile cutanate sunt extinse similar celor din varicela mortală.

(2) Imunitatea umorală și celulară sunt persistente și asigură imunitatea anti-varicela, dar nu protejează față de reactivările virusului. Rol major are imunitatea celulară.

(3) Diagnosticul de laborator este necesar în cazurile cu evoluție atipică.

Diagnosticul direct. Metodele rapide, sensibile și specifice (e.g., PCR), au indicație majoră în formele grave ale infecției cu VVZ, cum sunt cele neurologice.

Clasic, **microscopia raclatului** de la baza veziculelor relevă celule gigante multinucleate cu incluziuni intranucleare eozinofile. Antigenul viral din aceste celule sau din fluidul vezicular ori extractul de cruste poate fi identificat prin colorație imunofluorescentă.

Herpesvirusurile

Depistarea antigenului de membrană cu anticorpi imunofluorescenți are bună sensibilitate și specificitate.

Izolarea virusului în culturi de celule umane dă rezultate tardive. Alte gazde de laborator nu sunt receptive. Efectul citopatic este tardiv, dar după 3-7 zile de incubare virusul poate fi depistat în cultura de celule, uzual prin colorație imunofluorescentă.

Serologia, mai accesibilă, urmărește seroconversia sau creșterea de cel puțin 4 ori a titrului anticorpilor în serul tardiv față de cel precoce. Este utilizată ELISA, cu avantajul identificării anticorpilor IgM. Alternativ, cu rezultate mai modeste, poate fi folosită clasică RFC.

(4) **Tratamentul etiotrop** se impune numai în cazurile grave. *In vivo* vidarabina este mai activă decât aciclovirul. Mai utilizăm imunoglobuline umane imune specifice și interferon leucocitar.

(5) **Epidemiologie.** Răspândirea VVZ este cosmopolită. Incidența maximă a varicelei este la copii în vârstă de 2-6 ani. Adulții neimuni pot contracta boala. Varicela este o boală a sezonului de iarnă și primăvară. Herpesul zoster afectează adulții fără incidență sezonieră definită. Aproximativ 20% dintre adulți au experiența unui episod de reactivare a infecției cu VVZ.

Rezervor de infecție sunt pacienții cu varicelă. Contagiul prin picături Flügge este cel mai important, dar este posibil și prin contactul cu leziunile cutanate. Pacienții cu herpes zoster pot transmite varicela, prin contact cu leziunile.

(6) **Profilaxia.** Un vaccin viu atenuat a fost testat clinic cu bune rezultate, pentru protecția copiilor imunosupresați expuși la varicelă. În lipsa vaccinului acești copii pot fi chimioprofilactizați cu aciclovir. Imunoglobulinele anti-varicela-zoster administrate în perioada de incubație a contactilor imunosupresați atenuează severitatea bolii.

32.4. VIRUSUL CITOMEGALIC

Numele acestui virus provine de la dimensiunile crescute ale celulelor infectate.

In vitro VCM este replicat numai în culturi de fibroblaști umani, deși îl izolăm frecvent din celule epiteliale ale gazdei. Efectul citopatic al VCM constă în incluziuni peri- și intranucleare în celule frecvent mărite de volum (planșa 4.4,1). Replicarea este semnificativ mai lentă decât a VHS sau VVZ. Infecția se extinde de la celulă la celulă și cuprinde filmul celular abia în câteva săptămâni. Cantitatea de virus eliberată în supernatantul culturii este mică.

(1) **Infecția naturală și patogeneza** infecțiilor cu VCM. Strategia de eludare a răspunsului imun al gazdei proprie VCM este coafarea virionilor cu imunoglobuline nespecifice legate de una dintre glicoproteinele anvelopei care funcționează ca receptor pentru Fc. Virusul citomegalic este condiționat patogen. Consecințele infecției depind de vârsta și reactivitatea imună a gazdei.

- **Primoinfecția adolescentului și adultului** este contractată pe cale orală, sexuală sau prin transfuzii de sânge. Cel mai frecvent evoluează inaparent. Manifestări clinice sunt posibile după incubare de 4-8 săptămâni. Boala evoluează ca „mononucleoză citomegalică” (☞ Capitolul 32.5.), fără angină, fără adenită și fără anticorpi heterofili.

- **Infecția congenitală** este contractată transplacentar de la gravida cu primoinfecție sau cu infecție reactivată. Boală citomegalică fac aproximativ 10% din infecții: moarte *in utero* cu avort; copil născut prematur cu splenomegalie, icter, purpură trombocitopenică, pneumonie, malformații (☞ Capitolul 28.2.). Nou-născutul poate fi aparent normal, dar are virurie și ulterior este constatată întârziere mentală, motorie ori surditate.

• **Nou-născutul** poate contracta infecția cu VCM în canalul de naștere sau prin laptele matern, deși are anticorpi materni transmiși transplacentar. Infecția poate fi inaparentă sau manifestă clinic prin: pneumonie interstițială, hepatită, anemie hemolitică. Infectat aparent sau inaparent, copilul elimină VCM prin urină, începând cu 2-3 luni după naștere, timp de mai mulți ani.

• **Infecția la gazda imunosupresată.** Primoinfecția evoluează aparent și mai grav decât la gazda normoreactivă. Reactivările evoluează ca infecții diseminate, pneumonia fiind cea mai gravă complicație cu evoluție fatală.

(2) **Imunitatea.** Majoritatea persoanelor posedă anticorpi anti-VCM din clasele IgM, IgA și IgG, care nu influențează însă reactivarea infecției persistente. Prezența anticorpilor materni în lapte nu împiedică transmiterea infecției pe această cale. Anticorpii transmiși transplacentar atenuează numai gravitatea infecției congenitale.

(3) **Diagnosticul de laborator** vizează: (i) identificarea primoinfecției în toate formele ei; (ii) identificarea infecției persistente la donatorii de organe pentru transplant; (iii) determinarea antigenemiei pentru monitorizarea chimioterapiei.

Căutăm virusul în sedimentul urinar (celule tubulare exfoliate), spălătură faringiană, spălătură bronhoalveolară, leucocite, biopsii din țesuturile afectate. La avortoni sau în caz de deces la nou-născuți sau boală la imunosupresați examinăm glandele salivare, ficat, pulmoni, rinichi.

Microscopia uzuală pentru depistarea celulelor gigante cu incluziuni este puțin sensibilă. **Teste rapide, sensibile și specifice** sunt:

- Depistarea antigenului nuclear precoce al VCM prin anticorpi monoclonali în colorația indirectă cu peroxidază;

- Detecția genomului prin sonde ADN sau amplificare genică (PCR);

- Determinarea antigenemiei este posibilă prin detectarea proteinei majore de suprafață a VCM (fosfoproteina pp65).

Izolarea în culturi de fibroblaști umani permite studiul tulpinii infectante, dar ECP apare lent, în 1-2 săptămâni. **Identificarea** virusului în cultura de celule poate fi tentată din a 5-a zi prin colorație imunofluorescentă.

Serologia. Depistarea anticorpilor IgM (ELISA) sau IgG (latexaglutinare, ELISA) este utilă pentru diagnosticul infecției VCM asimptomatice. Anticorpii anti-VCM pot fi căutați și în LCR sau umoarea apoasă. Prezența anticorpilor IgM semnează infecția acută, dar nu în mod necesar primoinfecția. Cel mai util este criteriul dinamicii anticorpilor în probe de ser prelevate la interval de două săptămâni.

Pentru diagnosticul infecției congenitale, în afara depistării anticorpilor IgM, utilă este titrarea în dinamică a anticorpilor după 2-4 săptămâni de la naștere: creșterea semnificativă a titrului semnează infecția congenitală; scăderea – anticorpi materni transmiși transplacentar.

(4) **Tratamentul etiotrop.** În terapia infecțiilor severe cu VCM utile sunt: ganciclovirul, vidarabina sau aciclovirul.

(5) **Epidemiologie.** Omul este singurul rezervor de infecție. Cel mai frecvent virusul este transmis prin contact strâns cu o persoană care elimină virus prin salivă, urină sau alte fluide. Transmiterea sexuală și prin laptele matern este posibilă. Periculoasă, dar sub control, este transmiterea prin transplant de organ sau transfuzii de sânge. Receptivitatea este generală.

Infecția cu VCM evoluează endemic la scară mondială. Prevalența anticorpilor este de 40-80% în colectivitățile cu standard socioeconomic ridicat și bune deprinderi igienice, dar de 90-100% în grupurile defavorizate economic și cultural.

(6) **Profilaxia.** Există un vaccin viu atenuat a cărui utilizare este controversată din motive de securitate față de mutația reversă la virulență. Alt vaccin propus este un polipeptid purificat care stimulează producerea de anticorpi neutralizanți.

Practic ne bazăm pe triajul corect al donatorilor de organe pentru transplant și de sânge pentru transfuzii, izolarea nou-născuților cu boală citomegalică generalizată de restul nou-născuților. Măsurile de igienă personală la copii mari și adulți dau rezultate, dat fiind că VCM are o contagiozitate moderată.

32.5. VIRUSUL EPSTEIN-BARR (VEB)

Virusul Epstein-Barr cauzează mononucleoza infecțioasă și este asociat unor tumori maligne.

Celula țintă pentru VEB este limfocitul B pe care recunoaște receptorul pentru componenta C3d a complementului. Infecția este persistent integrată și transformantă. Limfocitele B umane infectate generează linii celulare continui. *In vivo* VEB este replicat și de celulele epiteliale orofaringiene, ale glandei parotide și cervixului uterin, dar în culturi aceste celule pierd receptorul pentru VEB.

Celulele infectate cu VEB exprimă trei clase de antigene, funcție de faza ciclului replicativ al virusului: (i) *Antigenele de fază latentă* sunt sintetizate de celulele infectate persistent integrat. Ele includ două proteine de membrană latente (LMP 1-2) și șase antigene nucleare (EBNA 1-6), dintre care constant exprimat este numai EBNA 1. Expresia acestor antigene indică prezența genomului VEB. (ii) *Antigenele precoce* sunt proteine non structurale a căror sinteză nu depinde de replicarea ADN-ului viral. Expresia lor indică debutul replicării virale productive. (iii) *Antigenele tardive* sunt componente structurale ale capsidei (VCA – *Viral Capsid Antigen*) și glicoproteine de anvelopă. Sunt produse în cantitate mare în infecția virală productivă.

(1) Infecția naturală și patogeneza. Manifestările infecției cu VEB sunt funcție de reactivitatea imună a gazdei: mononucleoza infecțioasă, boala acută a gazdei normoreactive, *versus* sindromul de mononucleoză cronică, carcinomul nasofaringian, limfomul Burkitt și alte boli limfoproliferative la gazde imunodeficiente.

Mononucleoza infecțioasă afectează copiii sau adulții tineri. Infecția este inițiată prin replicarea VEB în epiteliul orofaringian și glandele parotide. Infectează apoi persistent, integrat și transformant limfocitele B. Transformarea celulelor B este policlonală. Sunt activate și celule B neinfectate. Așa apar anticorpi heterofili (☞ mai jos) și autoanticorpi, dintre care unii atacă citoscheletul. Administrarea de ampicilină la pacienții cu mononucleoză infecțioasă produce sensibilizări la acest antibiotic.

În rezumat, simptomatologia mononucleozei infecțioase include: febră, angină severă (care poate mima angina streptococică), limfadenopatie, splenomegalie și leucocitoză cu limfocitoză, mai ales cu limfocite atipice (mari, cu citoplasma și nucleul vacuolizate). Frecvent apar semne de suferință hepatică și o erupție cutanată. În parte sindromul de mononucleoză infecțioasă reflectă reacția de rejet contra celulelor B infectate cu VEB.

Sindromul de mononucleoză cronică. La puțini pacienți, hiporeactivi, infecția se cronicizează și determină un sindrom grav care include pneumonie, hepatită, semne hematologice cu sfârșit uneori letal. La alții evoluția este mai puțin severă cu astenie, subfebrilitate, mialgii însoțite cu semne hematologice și serologice, care evoluează, cu eventuale exacerbări, luni sau ani.

La gazda imunocompromisă infecția cu VEB rămâne latentă și oncogenă (☞ Capitolul 37.3.). Așa se întâmplă probabil la pacienții cu malarie cronică pentru că tumorile asociate VEB apar în zone endemice de malarie: **limfomul Burkitt** la copii și tineri africani, **carcinomul nasofaringian** la bărbați de origine chineză din Asia de Sud-Est.

(2) Imunitatea. Interferonii α și γ apar implicați în vindecarea mononucleozei infecțioase. Răspunsul imun la infecția cu VEB este intens și explică apariția anticorpilor față de multe

DUMITRU T. BUIUC

A 33-a Adunare a Organizației Mondiale a Sănătății:
„...declară, în mod solemn, că planeta și toate
popoarele sale au fost eliberate de variolă...o
realizare fără precedent în istoria sănătății publice.”

REZOLUȚIA O.M.S., Geneva, 8 mai 1980

Poxvirusurile sunt cele mai mari și mai complex structurate virusuri. Virionul, oval sau în formă de cărămidă, are 400 nm lungime și 230 nm grosime. Este format dintr-o anvelopă lipoproteică cu structură microtubulară, care cuprinde un miez, alungit în formă de pișcot, flancat de doi corpi laterali. Miezul conține genomul ADN d.c. linear și mai multe enzime, inclusiv cele care asigură transcriptiile.

Poxvirusurile sunt singurele virusuri ADN replicate integral în citoplasma celulelor infectate. Cultivă cel mai ușor în membrana chorioalantoidă a embrionului de găină pe care determină pustule cu aspect diferit în funcție de virus. Mai pot fi cultivate și în multe linii celulare de primat.

Familia *Poxviridae* cuprinde trei genuri cu interes medical: *Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus* și *Molluscipoxvirus*. Comparativ cu alte poxvirusuri, parapoxvirusurile au dimensiuni mai mici: 250/160 nm.

33.1. VIRUSUL VARIOLEI

Importanța acestui *Orthopoxvirus* rezultă din faptul că determină variola, o boală epidemică, gravă, cu mare mortalitate și că variola a fost prima boală contagioasă eradicată.

Virusul inhalat, depus pe mucoasa tractusului respirator superior este replicat în țesutul limfatic regional și generează o viremie primară cu invazia sistemului reticuloendotelial. Replicat și în acest sistem celular difuz răspândit în organism, generează o viremie secundară mai importantă cu localizarea virusului în epidermă unde determină erupția caracteristică. Se produce proliferarea celulelor stratului germinativ al epidermei în citoplasma cărora se observă numeroase incluziuni acidofile, rotunde sau ovalare (corpi Guarnieri). În jurul capilarelor dermice apare un infiltrat inflamator cu celule mononucleare. Celulele tumefiate ale stratului malpighian suferă o degenerescență vacuolară. Ruperea membranelor acestor celule generează vezicule, care, invadate de leucocite și debriuri celulare, se transformă în pustule. Ulterior apar cruste. Suprainfecția elementelor eruptive, mai frecvent cu stafilococi, agravează boala generând septicemii.

Variola debutează după o incubatie de cca 12 zile. Stadiul preeruptiv de 1-5 zile se caracterizează prin febră și stare de rău. Spre deosebire de varicelă, elementele eruptive apar și evoluează concomitent, de la stadiul de papulă (1-4 zile) la cel de vezicule (1-4 zile) și pustule (2-6 zile) (CD 33-1). Vindecarea se produce după cca 2-4 săptămâni de la apariția erupției prin desprinderea crustelor care lasă cicatrice.

Virusul variolei are două variante. Una determină îmbolnăviri grave (*variola major*) cu mortalitate până la 40% și alta mai benignă (*variola minor* sau *alastrimul*) cu mortalitate sub 1%.

Imunitatea antivariolică este mediată celular. Deși boala sau vaccinarea induce și formarea de anticorpi neutralizanți, aceștia nu au rol protector determinat.

Variola a fost prima boală eradicată (declarația oficială a Adunării Mondiale a Sănătății, 8 mai 1980) pe baza principiilor pasteuriene de profilaxie. Succesul acțiunii a fost posibil deoarece: • omul este singura gazdă naturală a virusului variolic; • toate infecțiile evoluau aparent și tipic; • contagiozitatea bolii începe cu debutul erupției; • virusul variolei este antigenic unic; • vaccinul antivariolic (virusul vaccinia) este stabil și eficient; • O.M.S. a antrenat într-o campanie concertată toate forurile regionale și naționale implicate în implementarea programului de eradicare a acestei grave boli.

33.2. ALTE POXVIRUSURI

(1) **Virusul Cowpox.** Acest *Orthopoxvirus* care infectează natural vitele, la care determină pustule ale ugerului și mameloanelor. Infecția umană apare uzual ca boală profesională a mulgătorilor și se manifestă prin apariția de papule nedureroase pe fața dorsală a mâinilor, febră și limfadenită.

Rezervorul natural de virus par a fi rozătoarele de la care se infectează vitele, ocazional pisicile și chiar omul. Infecția umană non profesională cu virus Cowpox (în afara contactului cu vitele) se manifestă cu leziuni cutanate hemoragice, febră și stare de rău și, probabil, frecvent rămâne nediagnosticată.

(2) **Virusul Vaccinia** este o mutantă a virusului Cowpox, care și-a pierdut virulența pentru om și era folosit ca vaccin viu atenuat contra variolei.

(3) **Virusul pox al maimuțelor** este un *Orthopoxvirus* care, ocazional, determină la om îmbolnăviri asemănătoare variolei. De aceea diagnosticul de laborator al acestor îmbolnăviri trebuie cunoscut. Virusul poate fi izolat din raclatul leziunilor cutanate prin inoculare pe membrana chorioalantoidă a embrionului de găină. După 2-3 zile de incubare virusul variolic determină poxuri mici, în timp ce *monkeypox* determină leziuni hemoragice, iar virusul vaccinia poxuri mai mari cu centrul necrotic. Izolarea poate fi făcută și în culturi de celule cu identificarea virusurilor prin colorație imunofluorescentă. În prelevatul din leziuni cutanate pot fi urmărite antigenele virale prin imunodifuzie sau fixarea complementului.

(4) **Virusul Orf** este un *Parapoxvirus* care infectează natural oile și caprele la care determină o dermatită pustuloasă contagioasă sau stomatită. Boala se transmite și la om ca infecție profesională a ciobanilor. Infecția umană evoluează cu o singură leziune veziculo-papulară localizată pe haluce, pe mână, antebraț sau, rar, pe față sau ceafă (zonele cele mai expuse contagiului). Vindecarea este spontană, fără cicatrice, în decurs de trei săptămâni. Rar infecția este generalizată.

(5) **Molluscum contagiosum** este unic reprezentant al genului *Molluscipoxvirus*. Gazda naturală este omul. Determină mici tumori benigne, roze, cu suprafață încrețită, care apar pe față, pe brațe, pe spate sau fese. Transmiterea interumană este directă sau prin ustensile de toaletă. Acest virus a putut fi izolat în culturi de celule umane sau de maimuță, dar nu și subcultivat. Nu infectează animalele de laborator. Efectul citopatic în culturi de celule poate fi confundat cu cel provocat de virusul herpes simplex.

„Boli vechi pentru natură, dar noi pentru oameni.”

E. N. PAVLOVSKI, Pionier al studiilor antropogene
asupra ecosistemelor parazitare, 1947

34.1. GENERALITĂȚI

Arbovirusurile și Robovirusurile sunt două grupări de virusuri ARN constituite pe criterii epidemiologice așa cum o arată și siglele prin care sunt reunite: Arbovirus (de la *Arthropod borne viruses*, virusuri transmise de artropode hematofage) și Robovirus (*Rodent borne viruses*, virusuri transmise de rozătoare). Derivate din criteriul epidemiologic decurg alte două criterii pragmatice ale acestei clasificări: cele ale combaterii și profilaxiei bolilor determinate.

Taxonomic heterogene, aceste două grupări virale includ:

1) Arbovirusurile:

- *Togaviridae* prin genul *Alphavirus*
- *Flaviviridae* prin genul *Flavivirus*

Aceste virusuri sunt icosaedrice, au genom ARN m.c. cu sens pozitiv și au anvelopă. Dimensiunile medii sunt de 70 și respectiv 40 nm. Replicate în citoplasmă, togavirusurile înmuguresc prin membrana citoplasmică iar flavivirusurile prin membranele reticulului endoplasmic.

- *Bunyaviridae* prin genurile *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus* și *Hantavirus*. Au dimensiuni medii de 90-100 nm, anvelopă, nucleocapsidă cu simetrie icosaedrică și genom ARN m.c. cu sens negativ, trisegmentat. Replică în citoplasmă, înmuguresc prin membranele golgiene.

- *Reoviridae* (☞ Capitolul 26) prin genurile *Orbivirus* și *Coltivirus*.

2) Robovirusurile:

- *Arenaviridae* cu genul *Arenavirus*. Au diametrul de 120 nm, anvelopă, nucleocapsidă cu simetrie icosaedrică și genom ARN m.c. cu sens negativ. Replică în citoplasmă, înmuguresc prin membrana citoplasmică și înglobează ribosomi între anvelopă și nucleocapsidă.

- *Filoviridae* ai căror virioni, cu anvelopă, au nucleocapsidă helicală, genom ARN m.c. cu sens negativ. Dimensiunile lor medii sunt de 80 nm diametru și cel puțin 100 nm lungime. Replică în citoplasmă și înmuguresc prin membrana citoplasmică.

34.2. PATOGENITATE NATURALĂ ȘI PATOGENEZĂ

34.2.1. Infecții și boli arbovirale

Arbovirusurile determină boli caracterizate prin trei categorii de sindroame: • boli febrile eventual cu artralгии și erupții cutanate, rar meningoencefalite; • meningoencefalite și • febre hemoragice. Toate evoluează inițial viremic cu localizare ulterioară în organe țintă.

34.2.1.1. Boli febrile cu artralгии, erupții cutanate și ocazional meningoencefalite

(1) **Virusul Sindbis** este un *Alfavirus* cu răspândire cosmopolită. Rezervor de infecție sunt omul, păsări și mamifere iar vectori țânțarii (*Anopheles*, *Aedes*, *Culex* etc.). Infecția poate evolua subclinic sau ca boală febrilă cu poliartrită și exantem. Boala, cu incubatie de cca 7 zile, durează în jur de 10 zile. Rar bolnavii au icter și miocardită.

(2) **Virusul Denga** este un *Flavivirus* cu patru tipuri antigenice larg răspândite în Asia de Sud, Oceania și Caraibe. Rezervor de infecție sunt maimuțe iar vectori sunt țânțarii. Boala are incubatie de 4-7 zile și evoluează cu alură gripală. Vindecarea survine în aproximativ o săptămână. În cazurile grave care evoluează cu stare de șoc, terapia patogenetică substitutivă asigură supraviețuirea până la vindecare.

(3) **Virusul West Nile** este un *Flavivirus* răspândit în Asia și Africa. Rezervor de infecție sunt păsările iar vectori țânțarii. Ocazional boala evoluează cu meningoencefalită, uneori mortală. În unii ani, condițiile climatice și de igienă comunitară deficitară au favorizat circulația virusului West Nile și în România (e.g., epidemia din 1996-1997).

(4) **Febra papataci** este determinată de un flebovirus din familia *Bunyaviridae*. Boala evoluează în bazinul mediteranean, rezervorul de infecție este necunoscut iar vectorul *Phlebotomus papatasi*. Ocazional boala a fost semnalată și în sudul României.

(5) **Febra de căpușă din Colorado** este determinată de un Coltivirus din familia *Reoviridae*. Rezervor de infecție sunt rozătoare iar vector căpușa *Dermacentor andersonii*.

34.2.1.2. Meningoencefalite cu etiologie arbovirală sunt numeroase. Cele determinate de alfavirusuri evoluează în America (encefalite ecvine de Est, de Vest și din Venezuela), iar cele determinate de flavivirusuri le întâlnim în America (encefalita de Saint Louis), în Extremul Orient (encefalita japoneză), în Australia (encefalita din Valea Murray). Un bunyavirus determină encefalita de California. Toate aceste boli sunt transmise de țânțari iar rezervorul de infecție variază, după virus, de la păsări la rozătoare.

Cu interes pentru Europa sunt:

Encefalita de căpușă Central Europeană determinată de un flavivirus găzduit de mamifere și transmisă la om prin căpușe și ocazional prin consumul laptelui de capră nefiert.

Encefalita rusă de primăvară-vară, determinată de alt flavivirus, evoluează mai grav decât prima. Rezervor de infecție sunt rozătoare iar vectori căpușe.

34.2.1.3. Febrele hemoragice arbovirale. Ne interesează unele din cauza evoluției și în zona europeană, altele din cauza gravității extreme.

(1) **Denga** evoluează ca febră hemoragică dacă curând după infecția cu un serotip convalescentul contractează infecția cu un alt serotip (lipsa imunității încrucișate între serotipuri). Erupția peteșială care apare este expresia unui fenomen de sensibilizare la antigene neimunizante comune celor două serotipuri infectante.

(2) **Febra galbenă**, determinată de un flavivirus (de la această boală provine numele familiei și genului viral în cauză), este o boală foarte gravă inclusă între cele trei boli actuale cu regim internațional de carantină. Virusul febrei galbene mai este numit, comun, și virus amaril. Boala evoluează în zone tropicale și are două cicluri epidemice: unul „sălbatic”, cu rezervor de infecție maimuțele, și unul „domestic” cu rezervor de infecție omul. Ambele cicluri sunt legate prin același vector, țânțarul *Aedes aegyptius*, răspândit în zonele intertropicale.

Din restul febrei hemoragice cu etiologie arbovirală reținem numai pe cele cu circulație semnalată și în Europa:

(3) **Febra hemoragică de Crimeea – Congo** este determinată de un *Nairovirus*, din familia *Bunyaviridae*, găzduit de mamifere și vehiculat de căpușe în Africa, Europa de Sud-Est și Asia. După o incubatie de 1-9 zile (în medie 1-3 zile) boala debutează cu alură gripală severă. După câteva zile apar manifestările hemoragice: exantem peteșial, echimoze, gingivoragii, hematemă, melenă. Frecvent pacienții au hepatomegalie cu icter, creșterea transaminazelor, leucopenie și trombocitopenie. Mortalitatea variază între 10 și 50%. Au fost semnalate și infecții subclinice.

(4) **Febra hemoragică cu sindrom renal** este determinată de *Hantavirus* din familia *Bunyaviridae*. Mai este numită, după zona în care a fost descrisă inițial sau după agentul etiologic, și febră hemoragică coreeană sau febra hemoragică Hantaan. Boala este semnalată și în Europa (Scandinavia, Ungaria, Polonia, Germania, Grecia, Franța și România). Rezervor de infecție sunt diferite mamifere iar vector căpușe.

Contagiul se face prin înțepătura căpușei, dar este posibil și contagiu aerogen sau oral prin urina și fecalele animalelor gazdă. Virusul replicat în sistemul reticuloendotelial determină viremie, febră și mialgii după incubatie de 2-14 zile. Leziunile capilare duc la pierdere de eritrocite și plasmă în interstițiu: peteșii, hemoragii renale, digestive, pulmonare, cerebrale, hipotensiune până la șoc. Aproximativ un sfert dintre pacienți rămân cu sechele renale prin afectarea funcției tubulare. Forma coreeană a bolii evoluează cu mortalitate de 5-20%, în forma europeană evoluția este mai benignă cu mortalitate în jur de 1%.

34.2.2. Infecțiile cu Robovirusuri

Robovirusurile determină choriomeningita limfocitară și febre hemoragice.

34.2.2.1. Choriomeningita limfocitară este determinată de un *Arenavirus* găzduit cronic în unele colonii ale șoarecilor de casă. Infecția congenitală a șoarecilor este inaparentă, probabil datorită toleranței imune la virus. Abia după 10-12 luni de la naștere dezvoltă o infecție manifestă, mortală, cu interesarea sistemului nervos central. Primoinfecția șoarecilor adulți se manifestă cu leziuni glomerulare renale și hipergamaglobulinemie, expresie a unei boli prin complexe imune. Șoarecii infectați elimină virusul prin urină și fecale. Contaminarea omului este probabil aero-digestivă. Virusul choriomeningitei limfocitare mai este găzduit de câini, pisici și cobai, dar ponderea acestui rezervor de infecție pentru om este minoră.

Incubația bolii la om este între 18-21 zile (uneori mai scurtă, de 1-3 zile). Forma simplă febrilă evoluează cu simptomatologie nespecifică (febră, astenie, mialgii, faringită, tuse, leucopenie și limfocitoză relativă) încât rămâne cel mai frecvent nedagnosticată. Formele meningiene evoluează cu reacție inflamatorie meningiană (100-3000 celule/ μ L) dominată de limfocite, cu glicorahia și proteinorahia puțin modificate (☞ Capitolul 41).

34.2.2.2. Febrele hemoragice Sud-Americane sunt determinate de două arenavirusuri, v. Junin și v. Machupo. Surse de infecție sunt șoarecii de câmp. Virusul eliminat prin urină contaminează apa și cerealele. Sunt expuși riscului infecției fermierii și cei care manipulează cerealele contaminate.

Rata mortalității variază între 20% în infecțiile cu v. Machupo și 10-15% în cele cu v. Junin. Particular, febra hemoragică determinată de v. Junin evoluează cu imunodepresie umorală și celulară, încât administrarea de plasmă la acești pacienți în prima săptămână de boală reduce mortalitatea până la 1%.

34.2.2.3. Febrele hemoragice africane sunt boli grave atât prin mortalitatea extremă cât și prin transmiterea interumană a infecțiilor. Sunt determinate de două filovirusuri, v. Marburg și v. Ebola, și de un arenavirus, v. Lassa.

(1) **Pentru v. Marburg și v. Ebola** sursă de infecție bănuită, dar neconfirmată, pot fi lilieci și primare iar vectori căpușe. Incubația este cunoscută numai pentru infecția experimentală a maimuțelor rhesus sau maimuțelor africane verzi: 14-15 zile. Boala umană evoluează cu febră mare, erupție cutanată peteșială, purpurică, trombocitopenie, hemoragii nasale, gastrointestinale și genitourinare. Moartea survine în starea de

Arbovirusuri și robovirusuri

șoc. Rata mortalității poate atinge 80%. Aceste boli sunt endemice în Africa (Sudan, Zair), dar au fost semnalate cazuri de import (via primare) în Europa, SUA ori Filipine.

(2) **Febra hemoragică de Lassa** este determinată de un arenavirus care circulă în Africa de Vest. Sursa de infecție este șobolanul de casă (*Mastomys natalensis*). Boala evoluează cu febră foarte mare, dureri musculare severe, ulcere bucale, erupție peteșială, hemoragii, pneumonii, semne de suferință miocardică și renală. Între indigenii din unele zone ale Senegalului, Zairului ori Coastei de Fildeș febra de Lassa afectează cca 50% din populație (chiar mai mult decât malarie), cu o mortalitate în jur de 2%. La europenii afectați de boală mortalitatea variază însă între 36 și 67%.

Imunitatea după arbo- și roboviroze este persistentă și specifică de virus și serovar.

34.3. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR

Pentru **diagnosticul virologic** al arbo- și robovirozelor examinăm sânge în primele 2-4 zile de boală, lichid cefalorahidian în afectările meningoencefalice; creier și alte organe afectate în cazurile mortale.

Gazda cea mai sensibilă pentru izolarea de virus este șoricelul nou-născut inoculat intracerebral; culturile de celule sunt mai puțin sensibile. Riscul infecțiilor de laborator este foarte mare, de aceea diagnosticul direct al acestor boli este făcut numai în laboratoare care dispun de personal special calificat și de facilități pentru siguranță antiepidemică (maximală în cazul febrei hemoragice africane, a febrei galbene ș.a.). Diagnosticul prin reacția de amplificare genică ori hibridare *in situ* este posibil pentru cele mai grave dintre aceste viroze (e.g., febra galbenă).

Diagnosticul serologic. Anticorpii neutralizanți și cei inhibitori ai hemaglutinării apar precoce și persistă toată viața. Ambele reacții sunt laborioase:

- Neutralizarea prin necesitatea tulpinilor de referință și a inoculării unui număr mare de gazde;

- Reacția de inhibare a hemaglutinării prin necesitatea hematiilor de pui de o zi sau de găscă, dependența de pH, reacțiile încrucișate între virusuri ale aceluiași gen, necesitatea îndepărtării din seruri a inhibitorilor serici nespecifici ai hemaglutinării.

Reacțiile de imunofluorescență indirectă ori ELISA sunt utile pentru identificarea facilă a anticorpilor IgM (posibilitatea diagnosticului pe probă unică de ser).

Tratament antiviral pentru majoritatea arbovirozelor nu există. Ribavirinul a dat rezultate confirmate în tratamentul febrei de căpușă de Colorado (*Coltivirus*), febrei hemoragice de Crimeea-Congo (*Nairovirus*), a febrei hemoragice de Lassa cu sindrom renal (arenavirusuri), a febrei hemoragice sudamericane (arenavirusuri). Eficiența în tratamentul formelor pulmonare ale febrei hemoragice cu *Hantavirus* este controversată.

Epidemiologia poate fi dedusă din particularitățile biologice ale virusurilor prezentate mai sus.

Combaterea și profilaxia nespecifică impun controlul rezervorului de virus (deratizare când este reprezentat de rozătoare) și a vectorilor (dezanofelizarea și protecția contra căpușelor ➤ Capitolul 23).

Vaccinuri cu eficiență controlată avem numai împotriva febrei galbene (vaccin viu atenuat), a encefalitei japoneze (vaccin inactivat). Contra febrei hemoragice africane au fost preparate vaccinuri inactivate experimentate cu succes pe animale; vaccinurile atenuate sunt probabil excluse din cauza gravității bolii și incertitudinii atenuării stabile a tulpinilor. Contra tulpinilor asiatice de virus Hantaan, cele mai virulente, este comercializat un vaccin a cărui eficiență este în observație.

Hepatitele virale sunt boli sistemice care afectează ficatul. Evoluția infecției variază larg de la formele subclinice până la formele manifeste cu stare de rău, anorexie, grețuri, icter și comă prin insuficiență hepatică acută. Mai mult de jumătate dintre hepatocite trebuie să fie alterate funcțional sau distruse pentru ca să apară insuficiența hepatică.

Majoritatea hepatitelor sunt determinate de **virusurile hepatitei**, care sunt în număr de cel puțin cinci:

- Virusurile hepatitei A (VHA) și al hepatitei E (VHE) au similarități fizice și biologice. Sunt virusuri nude, icosaedrice, cu genom ARN m.c. și polaritate pozitivă, care cauzează hepatite acute autolimitate. Aparțin însă unor familii diferite.

- Virusurile hepatitei B (VHB) și al hepatitei C (VHC) și ele aparținând unor familii diferite, au în comun mai puține proprietăți fizice și biologice. Sunt virusuri cu anvelopă, care pot da infecții persistente cu potențial evolutiv spre hepatită cronică sau cancer hepatic.

- Virusul hepatitei D (VHD), un virus ARN defectiv. Infectează numai asociat VHB.

Alte virusuri ale hepatitei umane sunt în curs de studiu (ca virusul hepatitei G, înrudit cu VHC) sau numai postulate. Ne limităm doar să le amintim.

Hepatite cauzează și alte virusuri, dar numai ocazional, ca v. citomegalic, v. Epstein-Barr, v. herpes simplex (☞ Capitolul 32), sau în circumstanțe epidemiologice particulare, ca virusul febrei galbene (☞ Capitolul 34). Infecția cu aceste virusuri este întotdeauna și cu afectarea altor organe.

Regenerarea hepatocitelor este rapidă, dar o necroză hepatică extinsă, mai ales când infecția este persistentă și însoțită de reacții citolitic-citotoxice, dezorganizează stroma organului. În această situație regenerarea hepatocitelor este haotică, nu mai respectă structura lobulilor, și apare ciroza hepatică.

Hepatitele virale se însoțesc de creșteri importante ale concentrației aminotransferazelor (transaminazelor) serice: alaninaminotransferaza și aspartat aminotransferaza. Astăzi însă avem la dispoziție teste de laborator specifice pentru diagnosticul de laborator al hepatitelor virale.

Virusurile hepatitei

35.1. VIRUSUL HEPATITEI A

Virusul hepatitei A este un picornavirus, unic reprezentant al genului *Heparnavirus*. Are un singur serovar.

Rezistența la agenți fizico-chimici. Este stabil la pH acid, dar sensibil la pH alcalin (e.g., pH 3-5 versus pH 10). Rezistă la tratarea cu alcool, eter sau cloroform. Relativ rezistent la căldură, este inactivat în 4 minute la 70° C și imediat la 85° C căldură umedă. La concentrații de 10-15 ppm clor activ este inactivat după 30 minute, dar este mai rezistent în apele menajere. Rezistența relativă a VHA la dezinfectante impune precauții la îngrijirea pacienților și manipularea prelevatelor patologice sau excretelor.

Infectează experimental numai cimpanzeii și două specii de maimuțe din America de Sud, marmosetele *Sanguinus mystax*, *S. labiatus*. Virusul adaptat la marmosete sau din extractul fecal al pacienților cultivă, fără efect citopatic, în culturi primare ale hepatocitelor de *S. labiatus* sau de la maimuțe primate. Cultivarea este confirmată prin colorație imuno-fluorescentă. Animalele infectate experimental sunt sursă de antigen pentru diagnosticul serologic al bolii.

Patogenitatea naturală și patogenie. VHA ingerat este replicat primar în zone neidentificate ale tractusului digestiv și, antrenat prin curentul sangvin, infectează apoi hepatocitele. În ficat se elimină odată cu bila în intestin. Hepatita A are incubatie de 2-4 săptămâni, scurtă în raport cu cea a hepatitelor determinate de VHB sau VHC. Leziunile hepatice sunt benigne și infecția este autolimitată. Virusul este prezent în sânge și fecale cu două săptămâni înaintea debutului bolii și 1-2 săptămâni după dispariția icterului.

Imunitatea anti-VHA, asigurată de anticorpii IgG, este de durată.

Diagnosticul specific. *Izolarea VHA, depistarea antigenică* nu sunt uzual accesibile, rămân de competența cercetării științifice.

Examenul serologic este efectuat de rutină. Anticorpii IgM anti-VHA persistă 2-4 luni și semnifică infecția acută sau recentă. Anticorpii IgG anti-VHA sunt persistenți și semnifică boala în antecedente. Depistarea anticorpilor anti-VHA o facem prin ELISA. Un rezultat anti-VHA/IgM (+) cu anti-VHA totali (+) semnifică infecția acută, iar anti-VHA/IgM (-) cu anti-VHA totali (+) semnifică trecerea prin boală cu imunizare. Urmăriți în figura 35-1 raporturile dintre răspunsul imun, viremie, infecțiozitatea fecalelor, evoluția transaminazelor și icterului în hepatita cu virus A.

Tratament specific nu există.

Epidemiologie. Răspândirea VHA este cosmopolită. *Sursă de infecție* sunt bolnavii sau persoanele cu infecție subclinică (mai ales copiii fac această formă a infecției). *Transmiterea* este predominant fecal-orală, doar în condiții de mare promiscuitate este posibilă transmiterea prin contact interuman strâns. *Receptivitatea* este generală, iar rata mortalității sub 1%, de regulă consecință a formelor fulminante.

Profilaxia nespecifică impune măsurile pentru întreruperea transmiterii fecal-orale. *Specifică:* administrarea de imunoglobuline umane standard scade cu 80% rata formelor icterice, dar nu împiedică infecția. Vaccinarea selectivă (vaccin atenuat, inactivat sau obținut prin recombinare genetică) este eficientă.

35.2. VIRUSUL HEPATITEI E

Virusul hepatitei E este clasificat, temporar, în familia *Caliciviridae*, genul *Hepevirus*.

Poarta de intrare a infecției este orală. Incubația bolii – puțin mai lungă decât a hepatitei A (2-6 săptămâni, în medie). Patogenia nu este încă clară.

Hepatita cu VHE are severitate medie, este autolimitată și nu se cronicizează. Prin

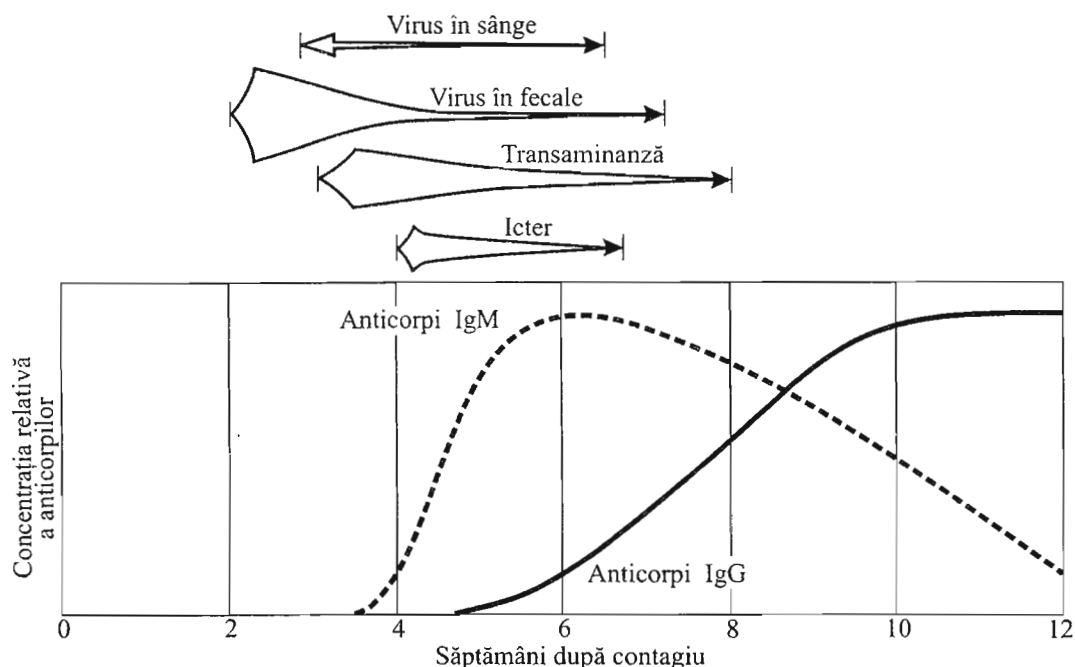


Fig. 35-1 Fenomene imunologice și biologice asociate hepatitei cu virus A
(după Hollinger și Dienstag, 1985)

mecanism neclarificat, la gravide evoluția poate fi fulminantă cu mortalitate de 17-20%.

Imunitatea este persistentă și asigurată de anticorpii IgG.

Diagnosticul direct (e.g., prin amplificare genică) este posibil, dar inaccesibil pentru practica de rutină. Serologic putem urmări anticorpii anti-VHE prin ELISA sau Western blot, dar interpretarea rezultatelor este diferită (e.g., lipsa răspunsului în anticorpi IgM anti-VHE, ori apariția lor tardivă; rezultate fals pozitive).

Tratament etiotrop nu există.

Răspândirea VHE apare limitată la unele zone ale globului (India, Pakistan, Mexic). Sursă de infecție sunt bolnavii, transmiterea fecal orală, iar receptivitatea pare mai mare la adulți decât la copii și la bărbați decât la femei.

Vaccin nu există încă.

35.3. VIRUSUL HEPATITEI B

Virusul hepatitei B aparține familiei *Hepadnaviridae*. Virionul sferic are diametrul de 42 nm. Anvelopa, care conține antigenul viral de suprafață, Ag HBs, înconjură nucleocapsida cu simetrie icosaedrică, purtătoare a antigenelor HBc (engl. *core*, miez) și HBe (enzimatic, o mare polimerază care include activități de revertranscriptază, ribonuclează și ADN polimerază). Genomul este ADN circular și parțial d.c.: catena negativă integrală și catena pozitivă în proporție de numai 50-80%.

În sângele pacienților virionii infectanți, numiți și particule Dane, coexistă cu particule sferice sau filamentoase goale constituite prin hiperproducție de Ag HBs în celulele infectate.

Rezistența la agenții fizici și chimici. Stabilitatea particulei infecțioase nu coincide cu cea a Ag HBs. Virionul, în stare uscată, rămâne viabil cel puțin o săptămână la temperatura camerei. Este inactivat într-un minut la 100° C (funcție de concentrația suspensiei) și în 6 ore la pH 2,4, în timp ce Ag HBs persistă nealterat. Infecțiozitatea și antigenitatea sunt alterate la

Virusurile hepatitei

concentrații de 5% hipoclorit de sodiu sau 2% glutaraldehidă, chiar în prezența sângelui. Precipitarea fracționată cu alcool a plasmei sanguine prin metoda Cohn partajează virionii de Ag HBs: virionul infecțios rămâne predominant în fracțiunea I (cu fibrinogenul și factorul VIII) și III (cu complexul protrombină), iar Ag HBs rămâne în fracțiunea II (cu γ globulina) și IV.

Ciclul replicativ. În rezumat, după fixarea pe hepatocit prin Ag HBs, nucleocapsida este endocitată și genomul decapsidat. În nucleul hepatocitului enzime celulare neidentificate convertesc ADN viral parțial d.c. la ADN complet d.c., care servește ca matriță pentru toate transcriptele virale, inclusiv pregenomul ARN de 3,5 kb. Grație unui semnal din vecinătatea extremității 5' pregenomul este încapsidat. La noile nucleocapside servește ca matriță pentru reverstranscriptaza VHB. Activitatea ribonucleazică a polimerazei virale elimină matrița ARN și rămâne numai catena ADN circulară cu polaritate negativă. Pe această matriță este sintetizată în proporție de 50-80% catena ADN cu polaritate pozitivă. Nucleocapsidele care conțin acești intermediari replicativi fie se maturează prin înmugurire, fie reintră în ciclul intracelular al infecției.

Maturarea și eliberarea virionilor din hepatocit se face prin înmugurire. Integrarea unor fragmente de ADN ale VHB în genomul hepatocitelor este frecventă în cursul hepatitei cu acest virus. După integrarea chiar a unor fragmente ADN mai lungi numai o parte din informația genetică este transcrisă în ARN pregenomic.

Virusul hepatitei B nu poate fi cultivat.

Patogenitatea naturală și patogenie. La poarta de intrare (mucoasele digestive, genitală, țesuturi) virusul este probabil replicat primar în țesutul limfoid, după care ajunge, pe cale sanguină, în hepatocit.

Incubația bolii este lungă, între 1 și 3 luni, legată probabil de implicarea mecanismelor de sensibilizare în patogenia bolii pentru că virusul nu lezează hepatocitele în cursul ciclului său replicativ.

Boala debutează cu artralгии, uneori și cu exantem la cca 10-20% din pacienții icterici. La copii, organisme receptive care realizează o importantă antigenemie HBs, sunt posibile glomerulonefrite. Toate acestea sunt fenomene de sensibilizare tip boala serului realizate în zona excesului de antigen pentru că anticorpii liberi nu sunt încă detectabili. Efectul citopatic și inflamația hepatică sunt expresia unei sensibilizări citolitic-citotoxice prin reacția Ag HBs din membrana hepatocitului cu anticorpii + complementul sau celulele ucigașe și cu limfocitele specific sensibilizate.

Molecule codificate de o genă a VHB inhibă sinteza interferonilor α și β de către celulele gazdei, fenomen cu posibilă semnificație în patogenia bolii.

Pe măsura agravării leziunilor hepatice apar semnele de hepatită, de regulă mai severe decât în hepatita cu VHA.

Imunitatea versus cronicizarea bolii. La gazda normoreactivă, deși forma de boală este mai severă, răspunsul imun ajunge progresiv eficient: replicarea virusului este tot mai limitată și după câteva luni sângele ajunge neinfecțios.

Aproximativ 10% din pacienți nu elimină virusul din hepatocite; infecția devine persistentă și sângele rămâne infecțios pentru tot restul vieții. Uneori leziunile hepatice continuă până la hepatita cronică, altele sunt discrete și purtătorul de Ag HBs rămâne asimptomatic. Pacienții imunodeficienți fac infecția acută cu forme mai benigne, dar rămân cel mai frecvent purtători de Ag HBs.

Vârsta la care a fost contractată infecția influențează evident evoluția. Copiii infectați perinatal, ca în zonele hiperendemice, devin în proporție de 90-95% purtători de Ag HBs comparativ cu 23% când infecția este contractată între 1 și 3 ani de viață și numai 3% când infecția survine la adultul tânăr.

Complicațiile tardive ale hepatitei B sunt grave:

- Ciroze hepatice ca rezultat al hepatitei cronice active;
- Carcinom hepatocelular. Riscul pentru această formă de cancer este de 200-300 ori mai mare la purtătorii de Ag HBs decât la non-purtători. Factorul carcinogen sunt copiiile de ADN al VHB integrate în genomul hepatocitelor. Integrarea se realizează după cca 2 ani de infecție cronică, iar transformarea malignă după cca 20-30 ani de portaj al Ag HBs.

Diagnosticul etiologic și prognosticul hepatitei cu virus B impun coroborarea corectă a metodelor directe de diagnostic (evaluarea antigenemiei HBs, HBe, HBc și mai semnificativ a virusului infecțios) *versus* răspunsul imun (anticorpi anti-HBs, anti-HBe și anti-HBc).

Tehnici sensibile uzuale în prezent pentru cantificarea antigenemiei și anticorpilor sunt variante ale ELISA. Reacții de microhemaglutinare pasivă (HAP) pot fi utilizate pentru urmărirea Ag HBs (hematii coafate cu anticorpi anti-HBs, HAP indirectă) și anticorpilor anti-HBs (HAP). Pentru amănunte tehnice vezi Lucrările practice. În rezumat, urmărește fig. 35-2:

- Antigenemia HBs* indică infecțiozitatea sângelui în boală acută, boală cronică sau portaj. *Antigenemia HBe* în aceleași circumstanțe indică o contagiozitate periculoasă prin sânge și, grav, prin secreții.

- Anticorpii anti-HBc semnifică boală acută sau cronică. În cazurile rare când Ag HBs nu este detectat pentru că a dispărut înaintea debutului bolii, numai prezența anticorpilor IgM anti-HBc rezolvă corect diagnosticul.

- Prezența anticorpilor anti-HBs semnifică imunitatea la reinfecție.

- Prezența anticorpilor anti-HBe indică un potențial infecțios redus al sângelui.

Tratament antiviral eficient nu există. Interferonul α în doze mari este administrat pentru debarasarea organismului de virus (mai puțin de 50% dintre purtători răspund la tratament).

Epidemiologie. Hepatita cu virus B are răspândire cosmopolită și evoluează hiperendemic în țările subdezvoltate. Sursă de infecție sunt bolnavii cu infecție acută sau cronică aparentă sau inaparentă. Aceștia vehiculează 10^6 - 10^9 genome virale/mL sânge. Virusul este eliminat la concentrații de 100-1000 ori mai mici prin spermă, salivă, secreții vaginale, laptele matern. Rata transmiterii VHB de la purtători este proporțională cu titrul genomic al plasmiei, cu frecvența și intensitatea expunerii la umorile care vehiculează virus. La titruri sub 10^6 genome/mL plasmă, riscul transmiterii pe orizontală și de la mamă la făt dispare (cu excepția transfuziilor). Căile de transmitere sunt: seringile, instrumentarul chirurgical contaminat cu sânge, cel stomatologic contaminat cu sânge și salivă. Transmiterea intravenoasă are eficiența cea mai mare, cea intramusculară este de cca 10 ori mai puțin eficientă. A mai fost incriminată transmiterea prin lame de bărbierit, abraziuni sau traumatisme în cursul activităților sportive, transmiterea între măcelari, care prin specificul activității fac frecvent leziuni ale mâinilor.

Alte căi posibile: oricare dintre contactele sexuale, laptele matern.

Receptivitatea pare generală.

Profilaxie. Vaccinarea anti-VHB cu un vaccin clonat în levură este eficientă pentru colectivitate numai în măsura în care este generalizată prin administrarea la nou-născuți în maternități. Revaccinarea este:

- selectivă pentru cei care desfășoară activități cu risc: în primul rând personalul sanitar.

- electivă la pacienții cu hemofilie sau la cei dializați.

Triajul donatorilor de sânge cu eliminarea celor infectați cu VHB își menține importanța.

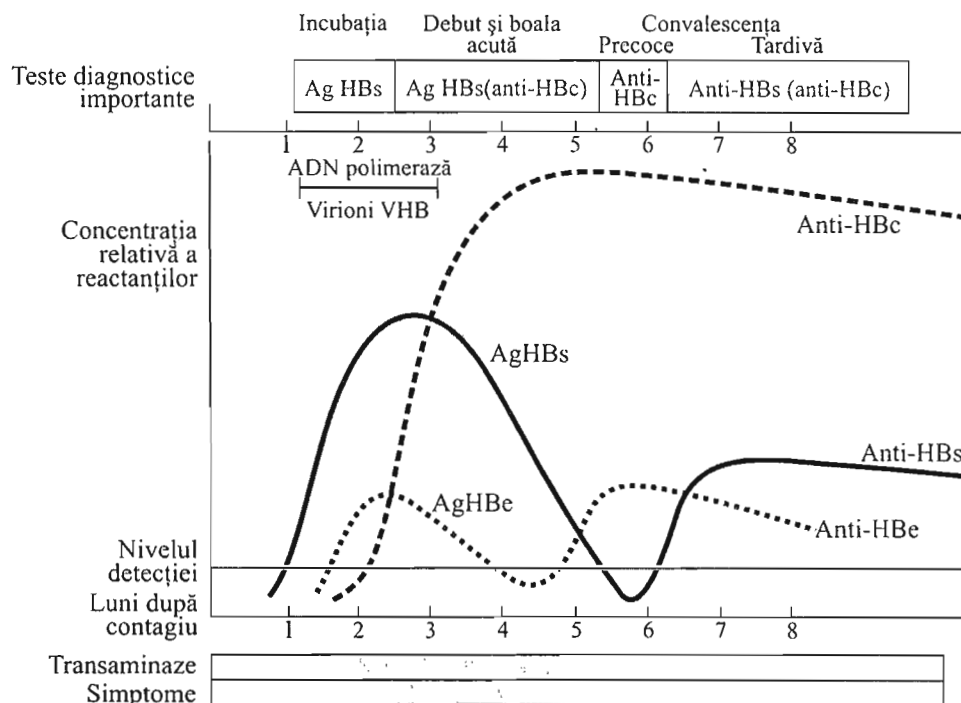


Fig. 35-2 Evoluția semnelor clinice și serologice la un pacient cu hepatită B (după Hollinger și Dienstag, 1985)

35.4. VIRUSUL HEPATITEI D

Virusul hepatitei D este un mic virus ARN defectiv replicat numai în prezența VHB. Are genom ARN m.c., circular și o anvelopă formată din antigen delta, codificat de propriul genom, și Ag HBs.

Boala poate fi contractată prin coinfecție simultană cu VHB+VHD sau prin suprainfecția cu VHD a unui pacient cu hepatită B acută ori cronică. Evoluția bolii este gravă mai ales la suprainfecția la care evoluția fulminantă este frecventă cu o rată a mortalității mai mare de 20%. Și infecția cu VHD se poate croniciza.

Teste pentru **diagnosticul** direct prin detectarea antigenului delta sau a ARN genomic sunt posibile, dar prohibitive din cauza costului. Practic, recurgem la serodiagnostic prin detectarea în ELISA a anticorpilor (IgM, IgG) sau totali anti-VHD sau anti-Ag delta. Investigația este justificată numai la pacienți deja diagnosticați cu hepatită B (infecție acută, cronică activă sau portaj).

Tratament antiviral nu există. Interferonul α nu suprimă replicarea VHD.

Răspândirea VHD este mondială. Sursa de infecție sunt bolnavii cu forma acută sau cronică a infecției. Nivelul viremiei cu VHD este enorm: ajunge la 10^{10} - 10^{12} particule /mL de sânge. Transmiterea VHD se face prin ace de seringă și instrumentar contaminat cu sânge. Transmiterea sexuală sau perinatală este rară.

Profilaxia hepatitei D este bazată pe vaccinarea anti-VHB. Un vaccin anti-VHD nu există. Triaajul donatorilor de sânge este important pentru eliminarea celor infectați cu VHD.

35.5. VIRUSUL HEPATITEI C

Virusul hepatitei C este un flavivirus din genul *Hepacivirus*. Are mai multe tipuri antigenice. Hepatita C are cea mai lungă incubatie: 2-4 luni. În afara leziunilor hepatice pacienții pot avea vasculite, glomerulonefrită, artrită reumatoidă, fibroză pulmonară, anemie aplastică, limfoame non-Hodgkiniene. Unele dintre aceste manifestări sunt clar expresia unei sensibilizări de tip III prin complexe imune circulante. Altele ar putea fi datorate efectelor citopatice ale replicării VHC în celule extrahepatice. Infecția cu VHC se poate croniciza. Strategia persistenței virusului este probabil variația antigenică a glicoproteinelor de anvelopă E1 și E2, ținte ale anticorpilor neutralizanți. Astfel sub presiunea imunologică sunt selectate noi și noi variante care perpetuează infecția.

Complicațiile bolii sunt de temut: cca 50% din pacienți dezvoltă hepatită cronică activă, care la 20% evoluează spre ciroză. În multe teritorii infecția cu VHC este găsită în proporția de 60-90% din pacienții cu carcinom hepatocelular.

Pentru **diagnosticul** etiologic mai accesibilă este evidențierea anticorpilor anti-VHC prin teste ELISA confirmate prin RIBA (*Recombinant Immuno Binding Assay*) prin care este stabilită și clasa anticorpilor reactanți. Detectarea genomului VHC prin amplificare genică (PCR) confirmă boala în caz de rezultate serologice echivoce.

Tratamentul antiviral. Interferonii α și β administrați în faza acută a infecției cu VHC minimizează riscul cronicizării. Interferonul α este larg utilizat în tratamentul formelor cronice. La interferon poate fi asociat ribavirinu.

Răspândirea VHC este mondială. Sursă de infecție este bolnavul cu infecție acută sau cronică. Concentrația virusului din sânge atinge numai 10^5 doze infectante/mL. De aceea transmiterea mai eficientă a hepatitei C este cea prin transfuziile de sânge, administrarea derivatelor de plasmă provenită de la multipli donatori. Transmiterea prin transplant de organ, transmiterea pe cale sexuală și de la mamă la făt sunt posibile. De asemenea incidența hepatitei C este mai mare la tatuați. Categoriile cu risc de contractare a bolii sunt personalul medical, bolnavii cu hemofilie sau dializați cronic.

Profilaxia prin imunoglobuline este contraindicată (categorie de risc). Vaccin eficient încă nu avem. În aceste condiții mare atenție este acordată triajului donatorilor de sânge prin metode cât mai sensibile pentru detecția VHC.

LUMINIȚA SMARANDA IANCU

„«Ciurma neagră a apărut dintr-odată și aproape tot dintr-odată a dispărut.» spune dr. Robert Gallo, care împreună cu Luc Montagnier a descoperit HIV în anii 1980. HIV/SIDA este mai rău. Este o boală cronică fără tratament și, ca și guturaiul, continuă să prezinte noi tulpini ceea ce o face dificil de tratat, de prevenit, de înțeles sau anticipat. Este critic așa cum demonstrează faptul că în jur de 25 milioane de oameni au murit de SIDA în întreaga lume (3 milioane în 2001) și alte 40 milioane sunt infectați cu HIV și de aceea atenția noastră și resursele trebuie direcționate spre prevenirea infecției cu HIV/SIDA.”

GWEN FARRIS NEWMAN, 13 februarie 2002

36.1. GENERALITĂȚI

Definiție. Familia *Retroviridae* diferă total de celelalte virusuri prin ciclul replicativ care decurge din particularități genomice. Genomul particulelor infecțioase retrovirale este ARN m.c. linear, cu polaritate pozitivă, diploid (format din două copii ARN identice) și are asociată o reverstrascriptază (RT), enzimă care inversează transcrierea informației genetice din secvențe ARN în secvențe ADN. Astfel, sub acțiunea RT, în stadiul precoce al replicării, rezultă un provirus ADN dublu catenar diploid, care se integrează linear în genomul celulei gazdă. Deci prezența RT și a două genome cu informație identică, unul ARN al virionului matur, infecțios, și altul ADN al provirusului, caracterizează retrovirusurile. Numai când provirusul este activat prin anumite semnale, cum sunt citokine, antigene, informația sa genetică este transcrisă în ARNm și începe sinteza proteinelor virale, replicarea genomului ARN, morfogeneza virionilor care înmuguresc prin membrana citoplasmică transformată de inserția glicoproteinelor virale.

Structural, în particula infecțioasă retrovirală observăm: nucleocapsida icosaedrică înconjurată de o membrană internă și o anvelopă lipoproteică pe care proemină glicoproteinele cu aspect măciucat.

Genomul proviral este flancat de secvențe nucleotidice repetate numite LTR (*Long Terminal Repeats*), care conțin secvențe nucleotidice importante în expresia virală: promotorul și elemente de amplificare. Genomul tuturor retrovirusurilor capabile de replicare autonomă include trei gene care codifică trei seturi de proteine structurale: proteinele miezului capsidal, gena *gag*, glicoproteinele anvelopei, gena *env*, și reverstrascriptaza, gena *pol*. Poziția acestor elemente în genomul retroviral este ⁵LTR-*gag-pol-env*-LTR³.

Clasificare. Retrovirusurile au trei subfamilii: *Oncornavirinae*, *Spumavirinae* și *Lentivirinae*, fiecare cuprinzând și specii care infectează omul.

(i) Oncornavirinele sunt virusuri oncogene (☞ Subcapitolul 37.2)

(ii) Spumavirinele produc în culturi de celule efect citopatic particularizat prin degenerescență cu vacuolare spumoasă. Infectează un număr de mamifere. La om nu au fost asociate cu vreo boală, deși infecția este atestată de prezența anticorpilor serici.

(iii) Lentivirinele sunt retrovirusuri nononcogene, care pot fi citocide. Expresia virală are restricții *in vivo*, de aceea bolile determinate sunt lent progresive, cronice. Numeroase specii

animale găzduiesc și sunt îmbolnăvite de lentivirusuri. Sunt cunoscute: virusul visna-maedi, care afectează pulmonii și sistemul nervos central al oilor, virusul artritei și encefalitei caprelor.

Lentivirusurile care infectează celulele sistemului imun determină sindroame de imunodeficiență dobândită la variate specii animale: bovine, feline, primate, om. Boala este mai cunoscută sub numele de SIDA (abreviere de la *Syndrome d'Immunodeficiency Acquis*). Între virusurile imunodeficienței simiene (SIV, de la *Simian Immunodeficiency Virus*) și cele ale imunodeficienței umane (HIV, de la *Human Immunodeficiency Virus*) există o anumită filiație. Specii afectate de SIV sunt: macacii *rhesus* și *cynomolgus*, maimuța africană verde, mangabiul negru, mandrillii și cimpanzeii. Virusurile imunodeficienței umane sunt HIV-1 și HIV-2.

36.2. VIRUSUL IMUNODEFICIENȚEI UMANE

Sindromul imunodeficienței dobândite este, pentru om, o boală emergentă: primul caz a fost identificat în 1981, iar HIV este un virus nou apărut în Africa la sfârșitul anilor 1970, izolat și identificat în 1983 în Franța și 1984 în SUA.

Istoria naturală a HIV. La maimuțele africane, în habitatul lor natural, SIV determină numai infecții inaparente. Din contra, maimuțele *rhesus* asiatice, neinfectate natural, sunt receptive la SIDA simiană, după infecția prin variate SIV. Izolatele de SIV de la mangabiul negru (maimuța vest africană) sunt atât de asemănătoare cu HIV-2 încât par ca precursori ale acestui virus devenit uman. Precursorul lui HIV-1 nu este clar, dar are strânse înrudiri cu virusul cimpanzeilor, de altfel singura specie receptivă la infecția experimentală cu HIV-1. Ipotetic, HIV-1 este un virus al primatelor primitive din care au evoluat primatele actuale și omul. Posibil ca HIV-1 să fi fost prezent de mulți ani în populațiile centrafricane, dar la sfârșitul deceniului 1970 s-a răspândit rapid odată cu schimbarea proprietăților biologice ca rezultat al frecvențelor transmiteri interumane în cursul migrării populațiilor africane. A urmat în scurt timp pandemia de SIDA.

Structura. Electronomicrografiile evidențiază un virion sferic, de 80-130 nm cu un miez sub forma unui trunchi de con. Are simetrie icosaedrică și anvelopă cu 72 de spiculi externi măciucați formați din proteinele majore ale învelișului viral: gp120 și gp transmembranar 41.

Membrana proteică, așezată între anvelopă și miez, este alcătuită din proteina de membrană (p17), dar conține și protează virală. Miezul central este format din 2 molecule ARN și proteine: proteina internă asociată ARN-ului (p15) și enzimele virale: RT și integraza. Membrana nucleocapsidei este formată în cea mai mare parte din polipeptidul fosforilat p24 (proteina internă majoră); proteina internă p17 este asociată cu suprafața internă a stratului bilipidic al anvelopei, servind la stabilizarea componentelor externe și interne ale miezului.

Genomul și funcțiile genelor structurale și nestructurale: HIV conține un genom diploid alcătuit din 2 molecule de ARN identice cu polaritate (+), asamblate printr-o legătură de hidrogen (70S). Genomul (de aprox 9,7 kb) este flancat de 2 secvențe LTR cu rol în integrarea HIV și transcripție.

Genomul conține gene care codifică proteinele structurale (*gag*, *pol* și *env* în această ordine dinspre capătul 5') comune pentru toate retrovirusurile. Gena *gag* (*grup antigenic*) codifică sinteza proteinelor de miez (p24, p17, rezultate prin clivarea unui precursor de 55 kDa); gena *pol* (*polimeraza*): sinteza enzimelor; gena *env* (*envelope*) codifică sinteza proteinelor de înveliș (gp120 și gp41 rezultate prin clivarea unui precursor de 160 kDa), care realizează atașarea de receptori CD4.

Genomul mai conține gene nestructurale, care codifică funcții de control al replicării:

- Genele reglatoare: *tat*: activator transcripțional; *rev*: regulator al expresiei genelor structurale deci activator al producției de virus; *nef*: factor de reglare negativă a producției de virus.

• Gene de maturare: *vif*: promotor al infectivității virusului; *vpr*: probabil slab activator transcripțional; *vpu*: crește proporția particulelor virale extracelulare.

Replicarea. HIV infectează multe țesuturi umane: limfocite T și B, macrofage, megacariocite, celule dendritice, promielocite, celule stem, celule timice epiteliale, celule dendritice foliculare; astrocite, macrofage microgliale, oligodendrocite, fibroblaste, celule Langerhans, celule intestinale, miocardice, renale etc.

Etapele replicării:

(i) Atașarea gp120 la receptori CD4 de la nivelul limfocitelor T *helper* și macrofagelor;
(ii) Interacțiunea între domeniul de fuziune al HIV (gp41) cu receptorul de fuziune al celulei gazdă. Fixarea este urmată de un clivaj proteolitic al buclei V3 a gp120 de către proteazele celulare, care determină o modificare conformațională a celor 2 glicoproteine de înveliș. Modificarea are drept scop recunoașterea altor proteine membranare (cum sunt coreceptorii pentru chemochine CCR5 și CXCR4) și de a antrena gp41 să realizeze fuziunea dintre membranele celulare și cele virale și, în acest fel, pătrunderea nucleocapsidei virale în citoplasma celulei gazdă urmată de decapsidare.

(iii) Pe matrița ARN se formează prin reverstranscriere o catenă ADN negativă apoi o catenă ADN dublă. ADN d.c. proviral este transportat în nucleu și integrat în cromosomul gazdei sub controlul integrazei virale.

Pe scurt, limfocitele CD4 în repaus nu pot replica HIV. În limfocitele activate, factorii transcripționali de activare (e.g., citokinele) pot declanșa replicarea virală prin intermediul secvențelor ce interacționează cu LTR. Activarea unei infecții HIV latente se poate realiza și în cazul coinfecției cu alte virusuri (e.g., virusul citomegalic, virusurile herpetice 6, 7, 8, virusul Epstein-Barr, HTLV I). După integrarea aleatorie infecția evoluează lent. Transcripția genomului viral în ARNm se realizează printr-o ARN polimerază a gazdei. Primii ARNm transcriși codifică genele reglatoare *tat*, *rev* și *nef*. Sinteza proteinelor structurale este realizată de 2 tipuri de ARNm virali. La sfârșitul replicării, virusurile sunt eliberate prin înmugurire, dar imature. Maturarea extracelulară se face prin intermediul proteazei virale.

Eficiența dezinfecției. Suspensii cu $\geq 10^5$ unități infective HIV sunt complet inactivate, după 10 minute de contact, la temperatura camerei, de oricare dintre următorii agenți: etanol 50%, isopropanol 30%, lizol 0,5%, paraformaldehidă 0,5%, peroxid de hidrogen 0,3%, hipoclorit de sodiu 0,5%. Sunt inactivate în 30 minute la 56°C căldură umedă, chiar în prezența a 10% ser uman; îl protejează însă materialul proteic uscat.

Infecția cu HIV și patogenează. După contagiul cu HIV, sexual, de la mamă la făt ori parenteral, infecția parcurge două stadii: (i) infecția primară, extinsă pe cca 10 ani, include diseminarea virusului în organele limfatice și sistemul fagocitic mononuclear, latența clinică și inducția expresiei HIV; (ii) SIDA cu evoluție letală în aproximativ doi ani.

Virusul imunodeficienței umane se adsoarbe pe receptori CD4 pentru gp120 prezenți cu mare densitate pe limfocitele T₄ și mai puțin numeroși pe alte celule receptive (mai sus). Începe replicarea virusului cu diseminare hematogenă și viremie detectabilă 8-12 săptămâni. Numărul limfocitelor T scade de la cca 1000 până la 500/ μ L.

Răspunsul imun detectat între lunile 1 și 3 de la contagiu determină scăderea bruscă a viremiei, până la 10^3 - 10^4 celule infectate circulante, iar concentrația limfocitelor T₄ tinde spre normalizare, pe care însă nu o mai realizează integral. Variația antigenică a gp120 eludează imunitatea încât vindecarea microbiologică nu se produce. Virusul persistă însă în celulele sistemului limfatic unde este replicat. Cursul bolii este influențat de balanța dintre factorii inductori și supresori ai replicării HIV.

Factori inductori exogeni: HIV se replică mai eficient în limfocitele activate prin infecțiile cu microorganisme oportuniste, mai ales *M. tuberculosis* sau prin vaccinări. Sunt contraindicate mai ales vaccinările cu germeni vii, atenuați.

antigene ale virusului și răspuns imun celular cu secreție de limfokine. Antigene de fază latentă sunt ținte membranare pentru limfocitele T citotoxice. Așa limfocitele B transformate sunt eliminate, dar VEB persistă într-un număr limitat de celule cu reactivări ocazionale când se elimină prin salivă, deși gazda rămâne asimptomatică.

(3) Diagnosticul etiologic. Diagnosticul direct este puțin accesibil. Uzual este sero-diagnosticul.

Examinăm repetat salivă, spălătură faringiană pentru că excreția de VEB poate fi intermitentă; sânge sau țesut limfoid. **Microscopia** prin colorație imunofluorescentă nu este utilă din cauza sensibilității foarte reduse.

Izolarea virusului este laborioasă. Inoculăm cu prelevatul patologic cultura de limfocite din sângele cordonului ombilical și urmărim transformarea malignă cu apariția unei linii celulare continue în care urmărim apariția antigenelor VEB. Procedura durează 3-8 săptămâni. Alternativ cultivăm limfocitele B spontan transformate prin infecția cu VEB.

Sonde ADN pentru depistarea sensibilă a VEB există, dar nu sunt comercializate.

Serodiagnosticul. Reacția clasică Paul Bunell depistează anticorpi heterofili: aglutinine față de hematii de oaie, adsorbite pe hematii de bou, dar nu și prin suspensia de rinichi de cobai. Era o reacție de aglutinare în tuburi laborioasă. În prezent folosim o variantă a reacției Paul Bunell: testul rapid de triaj *Monospot*. Titrul anticorpilor heterofili crește în prima lună de la debutul bolii, după care dispar repede. Reacții fals pozitive apar la un mic număr de pacienți, mai ales copii sub vârsta de 10 ani. Reacții fals negative sunt posibile la 10-15% dintre pacienți.

Când diagnosticul nu este confirmat prin coroborarea semnelor clinice cu leucograma, prezența limfocitelor atipice și anticorpilor heterofili, investigăm anticorpii față de antigene VEB specifice. Depistarea prin ELISA a anticorpilor IgM anti-VCA pune diagnosticul infecției acute pe probă unică de ser. Diagnosticul retrospectiv este posibil dacă urmărim dinamica anticorpilor IgG anti-EBNA1 în probe prelevate la interval de două săptămâni.

(4) Tratamentul. Aciclovirul sau ganciclovirul reduc doar eliminarea virusului prin salivă fără a influența semnificativ cursul bolii.

(5) Epidemiologie. Studii seroepidemiologice atestă că infecția cu VEB este cosmopolită și contractată precoce în copilărie, frecvent ca formă inaparentă. Pacienții cu mononucleoză infecțioasă elimină virusul prin salivă mai multe săptămâni. Multe persoane sănătoase poartă și răspândesc intermitent virusul. Infecția se transmite prin contact oral apropiat („boala sărutului”). Receptivitatea la boală apare precoce, odată cu eliminarea anticorpilor materni.

(6) Profilaxie. Vaccinul viu atenuat cu administrare orală și un vaccin cu fracțiuni polipeptidice virale au dat rezultate bune. Sunt în experimentare: vaccinuri recombinante și vaccinuri clonate.

32.5. ALTE HERPESVIRUSURI UMANE

Herpesvirusul uman tip 6 (VHU 6). Dintre herpesvirusurile umane are înrudire antigenică limitată doar cu herpesvirusul uman 7. Îi sunt cunoscute două grupe antigenice. Cultivă bine în monocite, limfocitele T imature, limfocitele B, în celule gliale și fibroblastoide. În culturile celulare formează sinciții după 3-5 zile de cultivare.

Infecția are variate manifestări: de la infecția asimptomatică până la boli sistemice uneori fatale.

La copii normoreactivi determină *roseola infantum* numită și *exanтем subitum* sau a 6-a boală eruptivă. Boala evoluează spre vindecare spontană fără recăderi. La 60-70% dintre infectați nu apar simptome clinice. Cazurile severe sunt rare și evoluează cu febră (40°C),

Herpesvirusurile

semne respiratorii și digestive, miringită, exantem și convulsii. Complicațiile bolii pot fi: hepatită gravă, meningită aseptică, meningoencefalită.

La adult infecția evoluează cu limfadenopatie cronică. Limfadenopatii cu reactivări ale infecției determină la pacienții cu SIDA sau la receptorii de organe grefate.

Ganciclovirul și foscarnetul inhibă replicarea acestui virus *in vitro*, dar rezultatele terapeutice nu sunt încă verificate.

Modul de transmitere al VHU 6 rămâne încă necunoscut. Izolarea virusului din salivă și din rinichi ar incrimina transmiterea prin salivă sau urină.

Herpesvirusul uman tip 7 (VHU 7) este un virus limfotrop izolat din limfocite T activate din sângele periferic al unei persoane normale. Deși infecția este frecventă în copilăria precoce, VHU 7 nu a fost încă asociat cu vreo boală.

Herpesvirusul uman tip 8 (VHU 8) a fost inițial asociat cu sarcomul Kaposi. Ulterior a fost izolat și din boli limfoproliferative maligne (e.g., limfomul difuz al seroaselor). Prevalența anticorpilor anti-VHU 8 în țările dezvoltate este de 1-4% și a fost incriminată transmiterea sexuală. În țările subdezvoltate prevalența acestor anticorpi printre copii este de cca 50%, ceea ce pledează și pentru transmiterea extrasexuală.

Nu există tratament și nici vaccin.

Factorii inductori endogeni sunt citokinele proinflamatorii: $TNF\ \alpha$, IL-6, IL-1 β .

Factorii supresori endogeni: limfocitele CD8 ca și macrofagele ar fi sursa unor factori supresori. Posibili inhibitori sunt β -chemochinele.

Replicarea virusului în organele limfatice este semnificativ mai importantă în țesutul limfatic decât în sângele periferic. Aceasta are consecințe majore pentru cursul infecției pentru că dezorganizarea arhitecturii ganglionilor limfatici ajunge la un punct când producerea de limfocite CD4 se prăbușește și concentrația lor periferică scade sub 300 / μ L. Acum viremia crește brusc și apar primele manifestări ale SIDA (fig.36-1).

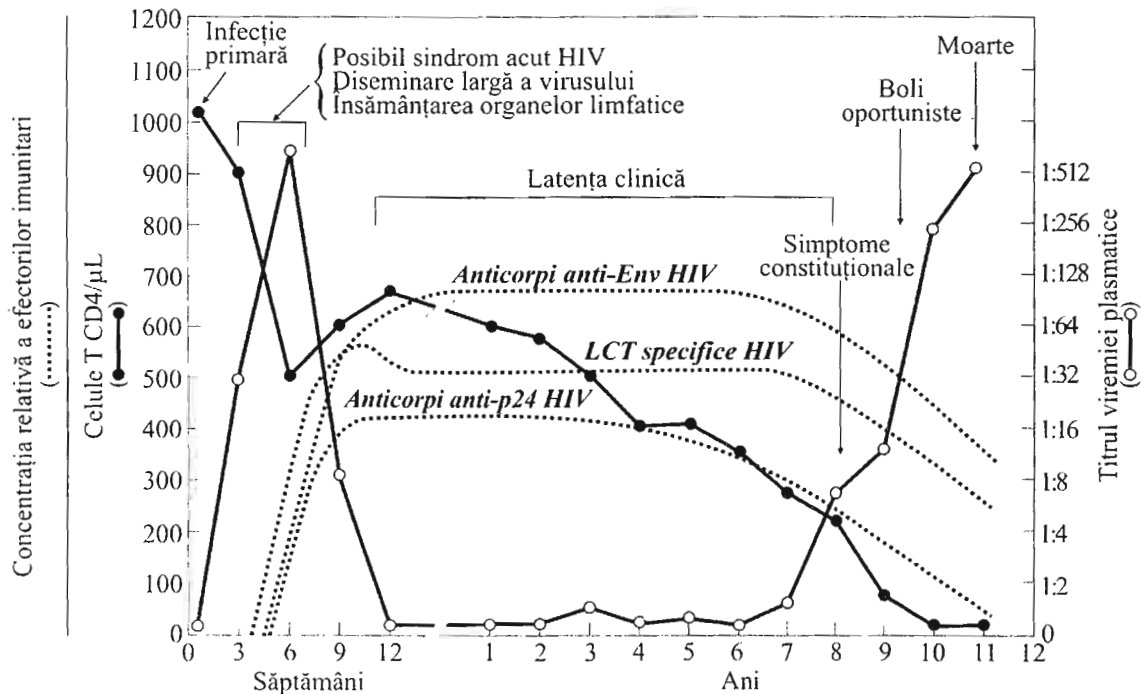


Fig. 36-1 Evoluția tipică a infecției cu HIV. Curând după infecția primară virusul este larg diseminat și scade brusc numărul celulelor T CD4 în sângele periferic. Apare răspunsul imun față de HIV (LCT, limfocite T citotoxice HIV specifice; Ac anti-p24 HIV; Ac anti-Env HIV) cu descreșterea viremiei urmată de o lungă perioadă de latentă clinică. În anii următori numărul celulelor T CD4 continuă să scadă până atinge nivelul critic de 300 de celule/ μ L; din acest moment riscul bolilor oportuniste devine marcant.

(adaptat după G. Pantaleo, C. Graziosi, A. S. Fauci, 1993; R. A. Weiss, 1993)

Depleția limfocitelor T_4 se produce prin mecanisme indirecte și directe.

Mecanismele indirecte se manifestă mai ales în primele stadii ale infecției primare:

- formarea de sinciții între celulele T infectate, care exprimă pe suprafață glicoproteinele virale, și celulele T neinfectate;
 - citotoxicitatea celulară datorată complexelor imune ale gp120 fixate la receptorii CD4, care fac celula areactivă la semnale externe ceea ce induce apoptoza.
- Mecanismul citocid direct** al HIV devine mai important în stadiile ulterioare ale infecției. Depleția limfocitelor T_4 dezorganizează răspunsul imun.

Suferința celulelor B rezultă din activare policlonală cu hipergamaglobulinemie nefuncțională, producerea de autoanticorpi și complexe imune circulante.

Rolul macrofagelor. Aceste celule, cu densitate mai redusă a receptorilor CD4 membranari, sunt infectate fără efect citopatic. De aici rolul lor în diseminarea și patogenia infecției cu HIV. Macrofagele alveolare au rol în pneumoniile interstițiale ale unor bolnavi cu

Retrovirusurile și SIDA

SIDA. Monocitele infectate pătrunse în sistemul nervos eliberează citokine toxice pentru neuroni și factori chemotactici pentru celulele inflamatorii. Consecințele sunt encefalopatie, demența SIDA, mielopatie, neuropatie periferică.

Clinic, infecția primară cu HIV evoluează în 50-70% din cazuri cu un *sindrom acut mononucleozic* (manifestări asemănătoare mononucleozei infecțioase), care debutează la 3-6 săptămâni după contagiu și durează de la câteva zile până la câteva săptămâni. Unii pacienți au *limfadenopatie persistentă generalizată*, iar la alții infecția evoluează *asimptomatic*. Pacienții cu sindrom acut clinic manifest au un prognostic mai prost decât cei asimptomatici.

Declinul anticorpilor anti-p24 împreună cu scăderea limfocitelor CD4 sub 300/μL anunță debutul SIDA.

Prodromul SIDA include simptome constituționale: pierdere în greutate, oboseală, transpirații nocturne, diaree persistentă la care se adaugă, după caz, herpes-zoster prelungit, candidoză orală sau leucoplazie păroasă a limbii.

Bolile și simptomele definitorii pentru SIDA traduc imunosupresia pronunțată: infecții cu microorganisme oportuniste a căror patogenitate nici nu o bănuiam altădată (pneumonia cu *Pneumocystis carinii*, cu virus citomegalic ș.a., reactivări grave ale infecțiilor cu *Mycobacterium tuberculosis* sau *M. avium*, candidoză esofagiană, meningită cu *Cryptococcus neoformans*, diaree cronică cu criptosporidii etc.), demență, retinită, forme neobișnuite de cancere (sarcomul lui Kaposi, carcinom ano-rectal, limfoame cu limfocite B, cancer invaziv de col uterin).

Diagnosticul de laborator. Examinăm: sânge pentru detectarea de virus și serologie. Alte produse pentru izolare de virus sunt: lichid cefalorahidian, salivă, lacrimi, lapte, urină, secreții vaginale, probe biopsice (e.g., de intestin). Chiar dacă în astfel de probe cantitatea de virus este uneori foarte mică trebuie luate toate precauțiile față de posibila contaminare a celui care recoltează. Se poartă întotdeauna mănuși iar acele sunt manevrate cu prudență și se aruncă în recipiente speciale pentru ace/instrumente înțepătoare, după recoltare.

Probele care nu sunt testate imediat trebuie congelate la temperaturi de -25°C sau -70°C. Pentru detectarea antigenelor virale este indicată congelarea la -70°C, iar pentru izolarea de virus conservarea în azot lichid, în mediu de cultură adiționat cu 10% dimetil sulfoxid.

Laboratoarele acreditate pentru diagnosticul infecției cu HIV sunt dotate cu facilități speciale de siguranță anti-epidemică.

Diagnosticul serologic este uzual folosit pentru diagnosticul infecției cu HIV și pentru triajul donatorilor de sânge.

Testele serologice au fost clasificate în: teste inițiale sau de triaj, care au sensibilitatea mai mare decât specificitatea; teste suplimentare sau de confirmare, care au cea mai mare specificitate.

Pentru triaj folosim:

(i) Teste rapide tip „*immunodot*” în care probele și reactivii sunt adăugați cu ajutorul unui micropicurator pe o membrană adsorbantă; rezultatele pozitive sunt marcate prin apariția unui spot colorat (testul HIV-CHECK) sau a unor semne (+) sau (-) (testul ABOTT-PACK). Rezultatele se obțin în 5-10 minute, nu necesită personal calificat și nici aparatură electronică, dar întotdeauna trebuie confirmate. Se recomandă laboratoarelor cu resurse financiare limitate din zone unde prevalența infecției este scăzută.

Dezavantaje: nu pot fi utilizate pentru diagnosticul individual al infecției cu HIV (trebuie întotdeauna confirmate) și nici în studii epidemiologice de amploare; se preferă testele ELISA caracterizate prin sensibilitate și specificitate mai mare și prin care pot fi testate minim 40 de probe concomitent.

(ii) ELISA indirect sau competitiv; este cel mai folosit test pentru că are cost scăzut, este standardizat și are posibilitatea de a da rezultate rapide (câteva ore). În condiții optime de lucru, sensibilitatea și specificitatea pot ajunge la peste 99%.

Rezultate fals negative se obțin : • când testul se efectuează înaintea seroconversiei; • la pacienți imunosupresați; • uneori tardiv, în stadiul de SIDA. În plus, unele teste imaginate pentru a detecta anti-HIV-1 nu pot detecta și anti-HIV-2. Rezultate eronate sunt generate de unele grupe de pacienți: hemodializați, boli autoimune, mielom multiplu, sau hemofilicii. Se mai adaugă surse de eroare ce țin de cel ce execută testul sau variații în sensibilitatea și specificitatea truselor. Din cauza surselor de eroare, un ser reactiv în ELISA pentru infecția cu HIV se repetă întotdeauna și, ulterior se confirmă prin WB sau IF.

(iii) Teste de aglutinare (e.g., latexaglutinarea); au avantajele legate de rapiditatea execuției și absența unui echipament sau personal calificat; toate rezultatele trebuie însă confirmate.

(iv) Teste de confirmare: cel mai utilizat este Western blot (WB): permite descrierea profilului serologic complet, pe categorii de anticorpi, față de structuri antigenice diferite (ale genelor : *gag*, *env* și *pol*) scăzând riscul rezultatelor fals pozitive la 0,05%.

Și în cazul testelor de confirmare, uneori, interpretarea rezultatelor se face cu dificultate (e.g., când se evidențiază, izolat, anticorpi anti-p24). Acest profil poate semnifica o seroconversie și atunci se va modifica în următoarele 1-2 luni sau, poate fi rezultatul unor *cross-reactivități* și rămâne neschimbat luni sau ani de zile. Costul ridicat WB limitează mult utilizarea lui.

Detectarea HIV nu este o metodă de rutină pentru diagnostic. Detectarea de virus în celule infectate poate fi făcută prin izolarea HIV prin cocultivare, dozarea Ag p24, detectarea ADN proviral în limfocite sau ARN viral plasmatic prin PCR.

(i) Prin ELISA putem detecta concentrațiile Ag p24 de ordinul pg/mL.

(ii) Testul WB pentru detectarea de antigene: se cercetează lizatul celulelor pentru evidențierea de proteine ale HIV. Distinge între HIV1 și HIV2.

(iii) Imunofluorescența indirectă este utilă pentru evidențierea de virus în celulele infectate. Testul este rapid, sensibil și poate detecta prezența unui număr redus de celule HIV infectate din populații de sute și mii de celule.

(iv) PCR: în prezent este cea mai sensibilă metodă de a detecta HIV infecția și pentru aprecierea „încărcăturii virale”. Testul poate fi adaptat să evidențieze și ARN al HIV. Aprecierea eficienței terapiei: nivelul CD4; evaluarea Ag p24; nivelul viremiei plasmatice.

Tratamentul antiviral. Medicamentele antivirale aprobate sunt în număr de patru, toate analogi nucleozidici inhibitori ai RT: zidovudina, didanozina, zalcitabina și stavudina. Sunt scumpe și toxice (neutropenie, anemie, mielopatie în cazul zidovudinei, pancreatită în cel al didanozinei, neuropatie periferică după zalcitabină sau stavudină). Eficiența lor este relativ scăzută și trebuie administrate asociat pentru a preveni selectarea variantelor virale rezistente.

Inhibitorii RT întârzie dezvoltarea infecțiilor oportuniste și prelungesc supraviețuirea. Tratamentul cu zidovudină început în săptămânile 14-34 de gestație la gravidele infectate cu HIV a redus cu 60% transmiterea perinatală a infecției (gravidele din lotul studiat aveau în jur de 200 limfocite CD4/ μ L sânge).

Este apreciat că terapia anti-HIV trebuie începută când pacienții au 500 limfocite CD4/ μ L. Eficiența terapiei este apreciată prin concentrația limfocitelor CD4, antigenemia p24 și nivelul viremiei plasmatice. Dezvoltarea rezistenței la medicamentul administrat este anunțată prin scăderea numărului de limfocite CD4, pierderea progresivă în greutate, apariția semnelor constitutive ale SIDA și apariția infecțiilor oportuniste.

Agenții anti-HIV alternativi sunt în studiu. Inhibitorii noncompetitivi ai RT, nevirapina și delavirdina sunt activi asupra HIV-1, dar nu inhibă HIV-2. Inhibitorii de protează, ca saquinavirul, inhibă replicarea HIV în

Retrovirusurile și SIDA

celulele infectate cronic. Terapia anti-genică vizează inhibitori ai genelor reglatoare ale replicării HIV și oligonucleotide antisens. Mai sunt considerate terapii care țintesc structurile celulare sau factorii necesari replicării HIV, ca anti-TNF α și ciclosporina; un inhibitor translațional al mesajului genetic; stimularea reactivității gazdei.

Epidemiologie. Modul de transmitere este similar cu cel din infecția cu virusul hepatitei B (VHB): pe cale sexuală, parenterală și verticală.

Riscul transmiterii pe cale sexuală variază în funcție de obiceiurile sexuale: cele mai riscante pentru transmiterea HIV sunt contactele anale și de la bărbat la femeie. Riscul transmiterii prin ace contaminate este semnificativ mai redus decât pentru infecția cu HVB, și anume de 1/250.

Pentru transmiterea de la mamă la făt, riscul este 30-50%.

Virusul nu se transmite prin picături Flügge, vectori cum ar țânțarii sau prin contact nesexual.

În SUA 63% dintre cazurile de SIDA sunt la homosexuali și bărbați bisexuali, iar 23% din cazuri sunt înregistrate la persoane ce utilizează drogarea pe cale i.v., majoritatea lor trăind în marile metropole. Restul pacienților sunt copii născuți din mame infectate, contactii heterosexuali ai indivizilor HIV infectați sau primitorii de sânge și preparate de sânge contaminate.

Pe grupe de risc, creșterea cea mai rapidă se anticipează la femei și în cercurile de drogați pe cale i.v. Creșterea numărului de cazuri printre femei este importantă: dacă în 1985 femeile reprezentau 7% din cazuri, în 1992 reprezentau 13%, iar la finele anului 2002, 49,7%.

Creșterea numărului de mame HIV infectate va duce la creșterea proporției copiilor născuți infectați. Nu se știe dacă istoria naturală a infecției este diferită la femei față de bărbați. Se pare că femeile HIV infectate au tendință de a se prezenta mai târziu pentru îngrijiri medicale decât bărbații și aceasta ar putea explica de ce unele studii transversale au afirmat că femeile evoluează mai rapid spre SIDA, comparativ cu bărbații. Femeile prezintă un risc crescut pentru complicații ginecologice cum ar fi: vaginita recurentă cu *Candida*, bolile inflamatorii pelvine și displazia cervicală care favorizează transmiterea HIV. S-a constatat că infecția cu HIV continuă să se răspândească din marile centre urbane și suburbane în regiunile rurale.

Profilaxia. Nu există vaccin și nici posibilitatea chimioprofilaxiei. În consecință singura cale de acțiune este schimbarea stilului de viață prin educație în general, educație morală, religioasă și sanitară în special. Obiectivele majore ale educației sanitare pe plan general sunt:

- Orice contact sexual, exceptând cuplurile monogame, trebuie protejat prin prezervativ.
- Nu trebuie utilizate în comun obiecte personale de toaletă (lame pentru bărbierit, periute de dinți etc.), orice fel de ace care penetrează tegumentul (de tatuaj, de acupunctură, de seringă).
- După orice condiție de risc a contractării infecției, femeile trebuie să-și facă un control serologic înainte de a hotărî o sarcină sau cât mai precoce dacă au luat deja această decizie.

Organele de sănătate publică sunt obligate să asigure educația sanitară specială a persoanelor depistate ca infectate cu HIV.

DUMITRU T. BUIUC, DRAGOȘ FLOREA

„Transplantând cancerul de la șoarece, epiteliom sau sarcom, la guzganii mai mici de 24 ore, am reușit să avem un cancer de origine șoarece pe aceste animale...am reușit și la puii de iepure. Am trecut acest cancer în serii timp de un an...după acest timp transplantat la adulți se resoarbe...acest cancer grefat din nou la șoarece nu numai că nu și-a pierdut specificitatea, dar crește încă cu mai multă vigoare. Este oare aici o chestiune de celulă care își păstrează specificitatea zoologică sau e vorba de un virus care nu s-a adaptat...”

IOAN GHEORGHIU, Experimente originale, 1925-1927

37.1. GENERALITĂȚI

Infecția cu unele virusuri a fost epidemiologic asociată cu anumite tumori. Celulele infectate cu asemenea virusuri, în prezența unor factori de risc fizici, chimici sau biologici – identificați ori încă neidentificați – suferă un efect transformant și nu se mai supun mecanismelor de control ale creșterii și diviziunii. Celulele transformate se multiplică selectiv și formează o tumoră pe care o numim:

- **benignă**, când procesul devine staționar sau regresează;
- **malignă**, când tumora distruge țesutul normal și se poate generaliza prin metastazarea celulelor transformate în alte țesuturi și organe.

Virusurile care au fost epidemiologic asociate cancerului sunt atât virururi ARN cât și ADN (tabelul 37-1).

Nu insistăm asupra virusurilor cancerigene pentru animale decât în măsura în care au contribuit la descifrarea mecanismului oncogenezei: e.g., prima demonstrare, conformă postulatelor lui Koch, a etiologiei virale a sarcomului mușchiului pectoral de găină (sarcomul Rous – Peyton Rous, 1911); extinderea studierii efectului transformant al unor virusuri de la culturi de celule la animale de experiență pentru descifrarea etapelor carcinogenezei în condițiile reacției gazdei la formarea tumorii.

Vom urmări, diferențiat, cum virusurile tumorale ARN implică în geneza neoplaziilor oncogenele celulare, în timp ce virusurile tumorale ADN implică genele celulare care codifică factorii supresori ai tumorilor.

37.1.1. Etapele carcinogenezei

Carcinogeneza este precedată de o suită de modificări genetice care convertesc celula normală în celulă malignă. Procesul începe prin acumularea de mutații celulare. Este estimat între trei și opt numărul mutațiilor care pot conferi acestor rare celule avantaje selective în populația celulară normală. Să urmărim pe scurt etapele cancerizării:

37.1.1.1. Imortalizarea. Celula poate crește continuu în cultură fără a exprima proprietățile unei transformări complete. Unele gene virale (e.g., gena *myc*) imortalizează culturile de

Oncogeneza virală

celule primare. Proteine virale pot inactiva proteine celulare supresoare ale tumorilor. O anumită combinație a mai multor oncogene realizează în final transformarea morfologică și funcțională a celulelor primare. Cel mai probabil virusurile tumorale sunt doar un cofactor responsabil numai de unele etape ale malignizării.

Tabelul 37-1 Virusuri asociate cu cancere umane

Familia	Virusul	Cancere asociate	Factori de risc
Virusuri ARN			
<i>Oncornavirinae</i>	HTLV-1 (Human T Lymphotropic virus)	Leucemia/limfomul adultului cu celule T	
<i>Flaviviridae</i>	Virusul hepatitei C	Carcinom hepatocelular	Aflatoxina B Coinfecție cu VHB, VHD
Virusuri ADN mici			
<i>Hepadnaviridae</i>	Virusul hepatitei B (VHB)	Carcinomul primar hepatocelular	Alcool, fumat, alte virusuri; toxine fungice
<i>Papovaviridae</i>	Papiloma	Carcinom cervical uterin	Fumat, v. herpes simplex, imunosupresie
Virusuri ADN mari			
<i>Herpesviridae</i>	Virusul Epstein-Barr	Limfomul lui Burkitt Boala Hodgkin Limfom imunoblastic Carcinom nasofaringian	Malarie, HIV Imunodeficiență Pește sărat în copilărie, tipul HLA
	Herpes simplex (frecvent tip 2, rar tip 1) Citomegalovirus	Neoplazie cervicală uterină Neoplazie cervicală uterină	Papilomavirusuri, fumat, imunodeficiență Imunodeficiență, tipul HLA
	Herpesvirusul asociat sarcomului lui Kaposi HHV 8 (KSHV)	Sarcomul lui Kaposi	HIV

37.1.1.2. Caractere particulare ale celulelor transformate:

- *Alterări ale creșterii:* rata sporită a creșterii cu mare densitate celulară, scăderea necesarului pentru factor de creștere celular, scăderea adezivității celulare la substrat. Pierderea inhibiției de contact face posibilă creșterea celulelor transformate în mediu semisolid.

- *Alterări ale suprafeței celulare:* crește rata de transport transmembranar a nutrienților, crește secreția de proteaze sau activatori ai proteazelor, schimbarea compoziției glicoproteice și glicolipidice cu prezența, uneori, a unor proteine codificate de virus, crește aglutinabilitatea prin lectine vegetale.

- *Alterări structurale și biochimice intracelulare:* modificări ale citoscheletului cu rotunjirea celulei; crește glicoliza și rata metabolică, se modifică concentrația nucleotidelor ciclice; unele gene celulare sunt represate, altele induse; apar ADN viral, ARNm și proteine virus codificate.

- *Tumorogenitatea:* capacitatea unora dintre celulele transformate de a iniția formarea de tumori când sunt injectate la animale de experiență, mai ales imunodepresate. Până în prezent această capacitate este imprevizibilă în raport cu caracterele de creștere *in vitro* ale celulelor transformate.

37.1.2. Mecanismele transformării celulare prin virusuri

Am văzut că mecanismele oncogene diferă între virusurile tumorale ARN și ADN.

37.1.2.1. Virusurile tumorale ARN. Acestea sunt retrovirusuri, *Oncornavirinae*. Genomul lor ADN proviral se integrează în genomul celulei gazdă. Oncogena virală (☞ mai jos), fără rol în replicarea virusului, codifică o proteinkinază care determină fosforilarea anormală a unor importante proteine celulare: din citoschelet, din plăcile de adeziune, enzime, proteine de transport. Rezultă dezorganizarea citoscheletului (de unde modificări ale formei celulelor), se întrerup semnalele care controlează diviziunea (de unde proliferarea anarhică), scade adeziunea intercelulară, care favorizează desprinderea din țesut a celulelor transformate cu apariția metastazelor ș.a.

37.1.2.2. Virusurile tumorale ADN. Cum a fost demonstrat experimental, în celule permissive ca și în cele nepermissive infectate cu adenovirus sau papovavirus, sinteza proteică precoce formează antigen T implicat probabil atât în inițierea sintezei de ADN viral, cât și în imortalizarea celulelor și transformarea lor malignă. În celulele nepermissive ARNm tardiv nu este funcțional, infecția este neproductivă și se manifestă numai efectul transformant al antigenului T. În celulele permissive efectul citocid are loc înaintea celui transformant. Antigenul T viral celular poate altera exprimarea genelor care codifică proteinele cu efect supresor al tumorii.

În anumite condiții infecția persistentă a omului cu virusuri determină tumori (tabelul 37-1).

37.2. VIRUSURILE TUMORALE ARN

Virusurile tumorale ARN aparțin subfamiliei *Oncornavirinae* a retrovirusurilor (☞ Capitolul 36).

Oncornavirusurile determină mai ales tumori ale sistemului reticuloendotelial și hematopoietic (limfoame, leucemii), ale țesutului conectiv (sarcoame). Pot fi împărțite, după criterii epidemiologice, în oncornavirusuri exogene și oncornavirusuri endogene. Le întâlnim la toate vertebratele. Sunt împărțite în ecotropice, amfotropice și xenotropice. Virusurile *ecotropice* infectează și se replică numai în celulele gazdei naturale. Virusurile *amfotropice* au spectru de gazde mai larg. Ele infectează gazda naturală și un număr de alte gazde pentru că folosesc receptori larg răspândiți la celulele vertebratelor. Cele *xenotrope* nu sunt replicate de gazda naturală, ci de celule heterologe, ale altor gazde; cele mai multe oncornavirusuri xenotrope sunt endogene. Un pionier al transplantelor tumorale heterologe a fost încă din 1920' doctorul Ioan Gheorghiu (elev al Profesorului Slătineanu), care a început experimentările la Strasbourg și le-a continuat la Iași unde, în anul 1927 a publicat o monografie.

Oncornavirusurile exogene se transmit „orizontal” între indivizii unei anumite specii gazdă. Sunt virusuri transformante nondefective sau defecte. Cele nondefective au structura integrală a retrovirusurilor în care identificăm toate elementele care controlează replicarea autonomă: secvențele LTR, care flanchează genomul, și genele *gag*, *pol*, *env* (☞ Capitolul 36). Unele *oncornavirusuri nondefective* poartă o genă transformantă, gena *onc* (e.g., virusul sarcomului Rous), altele nu au asemenea genă (e.g., virusul leucemiei aviare). *Oncornavirusurile defecte* (e.g., virusurile sarcoamelor, exceptând virusul sarcomului Rous) poartă secvențele LTR, au gena *onc*, dar sunt lipsite de gena *pol*, iar genele *gag* și *env* pot fi incomplete, nefuncționale. În fig. 37-1 sunt schematizate cele trei tipuri de genoame ale oncornavirusurilor exogene. Prototipul genei transformante este gena *src* (citește sarc) identificată la virusul sarcomului Rous. Cunoaștem în prezent aproape 30 de gene transformante. Ele codifică proteinkinazele responsabile de transformarea celulară malignă.

Oncornavirusurile exogene nondefective, care nu poartă genă *onc*, își exercită efectul transformant printr-o oncogenă celulară (☞ mai jos).

Oncogeneza virală

La oncornavirusurile exogene defective gena *onc* se substituie genei *pol*, iar celelalte două pot fi incomplete sau nefuncționale. Aceste virusuri infectează, dar sunt replicate numai în prezența unui virus *helper*.

Oncornavirusurile endogene se transmit numai „vertical” prin celulele liniei germinative. Sunt fragmente genomice eucariote care seamănă cu fragmente genomice ale oncornavirusurilor. Au fost identificate cu ajutorul sondelor de ADN proviral în placenta umană normală, în laptele femeilor din familii în care s-au înregistrat adenocarcinoame mamare (sau în probe de lapte de la femei fără asemenea antecedente ereditare), în unele linii celulare provenite din teratocarcinoame umane. Încă din 1976 în structura oncornavirusurilor endogene a fost identificată o genă *onc*. De la această dată a apărut diferențierea între oncogeneza virală (*v.onc*) și oncogeneza celulară (*c.onc*). Au mai fost identificate și alte elemente genetice ce par similare unor secvențe retrovirale: de la copii integrale sau defective ale LTR până la gene definite (mai frecvent *pol*). Deși au asociată activitate reverstranscriptazică, nu sunt infecțioase. Probabil unele dintre aceste elemente genetice sunt exprimate în cursul creșterii celulare și diferențierii țesuturilor, dar nu cunoaștem vreo semnificație care să poată fi atribuită acestei exprimări fenotipice. În general oncornavirusurile endogene sunt represate.

Oncornavirusurile purtătoare de oncogene induc *in vivo* tumori după o perioadă de incubație scurtă, sunt „acut transformante”. Cele nonpurtătoare de oncogene induc tumori după o perioadă lungă de incubație, sunt „lent transformante” (fig.37-1).

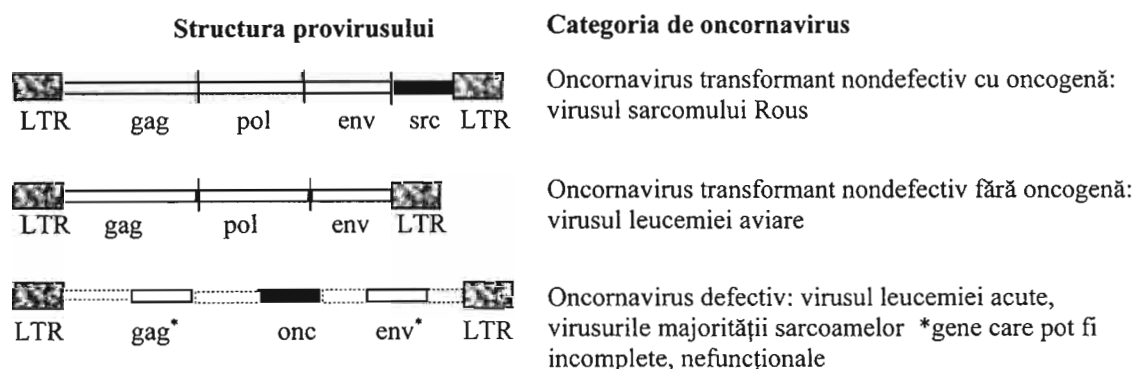


Fig. 37-1. Genomul unor oncornavirusuri

Mecanismele activării oncogenelor. Proteinele transformante codificate de *v-onc* și *c-onc* sunt identice ca greutate moleculară, structură și funcție. În celula normală genele *c-onc* sunt probabil represate într-un sistem de control fin echilibrat, care asigură creșterea și multiplicarea celulelor cu menținerea integrității lor structurale și metabolice. Mecanismele prin care o proto-oncogenă scapă de sub controlul genetic celular sunt mai multe, dar toate includ mutații.

(i) *Transducția printr-un retrovirus.* Inserția și deleția genomului proviral a putut determina recombinarea cu o proto-oncogenă celulară care, pe lângă mutații pe care le poate suferi (punctiforme, inserții, deleții) devine abundent exprimată sub controlul promotorului viral mai eficient decât cel celular.

(ii) *Mutageneza inserțională.* Provirusul se integrează în genomul celular între anumite grupe de gene. Astfel o proto-oncogenă intră sub controlul promotorului viral, mult mai activ. Modelul a fost numit „oncogeneza prin inserție de promotor”. Mutații inserționale pot duce la sinteza unor molecule incomplete.

(iii) *Translocarea cromosomală* rupe proto-oncogenele dintre secvențele nucleotidice regulatoare normale și o inseră lângă un promotor puternic. Anomaliile cromosomice din cancerele umane sunt cunoscute.

(iv) *Amplificarea genică.* Mai multe copii ale unei oncogene au fost identificate în cancerul uman de sân și sunt puternic corelate cu evoluția gravă a tumorii și o perioadă de supraviețuire mai scurtă.

(v) *Mutația* apărută în cursul copierii și integrării genelor celulare în genomul viral. Aceste mutații explică efectul transformant prin modificarea de substrat a activității enzimatică, altă specificitate de legare a unui factor de transcripție.

Activarea oncogenelor este numai una dintre secvențele care inițiază oncogeneza. La cealaltă extremitate pot fi inactivările genelor supresoare de tumoră. Astfel în cancerul de colon au fost identificate cel puțin opt alterări genetice care includ alterarea genelor supresoare de tumoră (p53, DCC ș.a.) și a genelor care controlează repararea ADN (e.g., *k-ras*).

Virusul hepatitei C (VHC) determină la cca 30 de ani după infecție carcinom hepatocelular. În unele zone (Spania, Italia, Japonia) tumora apare la cca 90% din foștii bolnavi cu hepatită C. Acest virus ARN nu produce ca virusul hepatitei B secvențe ADN care să fie integrate în genomul hepatocitelor. Nici nu a fost identificată vreo genă virală care codifică un factor transformant. În consecință, mecanismul malignizării în infecția cu VHC este unul indirect legat de leziunile inflamatorii cronice ale ficatului. Factori de risc sunt coinfecția cu virusul hepatitei B și D, expunerea la aflatoxina B.

37.3. VIRUSURILE TUMORALE ADN

Genele transformante ale virusurilor ADN tumorale codifică proteine implicate în replicarea virală și nu au omologi în celulele normale. În contrast, oncornavirusurile transduc oncogene celulare fără rol în replicarea virală. Sunt cunoscute cel puțin două ținte celulare cu care interacționează proteinele transformante ale virusurilor ADN, ambele codificate de genele supresoare de tumoră: *Rb* și *p53*.

În oncogeneza umană sunt implicate virusuri ADN din trei familii: *Papovaviridae* (papilomavirusurile), *Herpesviridae* (virusul Epstein-Barr, v. herpes simplex și v. citomegalic) și *Hepadnaviridae* (virusul hepatitei B umane). Alte virusuri ADN (e.g., adenovirusuri, poliomavirusurile) sunt cunoscute numai prin oncogeneza la animale.

37.3.1. Papovavirusurile

Papovavirusurile sunt virusuri nude, icoaedrice cu virion de 45-55nm. Au genom ADN d.c. circular. Cuprind **virusurile polioma** (murin), SV 40 (simian), BK și JC (umane), fără efect tumorigen la gazdele naturale, și **virusurile papiloma** (uman, lapin și bovin) cu efecte tumorigene.

Papilomavirusurile au tropism pentru celulele epiteliale ale tegumentului și mucoaselor. După contagiu, acidul nucleic viral este prezent în celulele bazale, care fiind nepermissive nu permit expresia proteinelor tardive capsidale. Pe măsura maturării, celulele devin permissive, replică virusul care își manifestă efectul tumorigen cu cele mai variate localizări. Papilomavirusurile se diferențiază de poliomavirusuri (cu care sunt înrudite) prin: dependența replicării de maturitatea celulelor gazdă (fig.4-9); efect tumorigen la gazde naturale; prezența de particule virale în unele dintre celulele tumorale; inserția episomală a unor copii genomice în celulele transformate.

Papilomavirusul uman are 41 de tipuri. Câteva tipuri, 1, 2, 7, 37, 41, 42 determină exclusiv tumori benigne cu diferite localizări: negi comuni, negi plantari, negi ai mâinilor, negi genitali, keratoacantoame.

Gravă este infecția cu tipurile 16, 18, 31, 33, 35, 39 care inițiază leziuni precanceroase și carcinoame ale mucoaselor genitală, esofagiană ori laringiană. Majoritatea cancerelor cervicale uterine, vulvare ori ale penisului conțin copii ale ADN proviral. Factori de risc pentru oncogeneza prin papilomavirusurile umane sunt: tabagismul și coinfecția cu virusul herpes simplex.

Alte tipuri de papilomavirus infectează cu risc cancerigen scăzut (e.g., tipurile 3, 6, 11, 28 ș.a.) sau moderat (tipurile 5, 8). Factorii cancerigeni codificați de papilomavirusurile umane sunt proteinele precoce E6 și E7, care complexează proteinele celulare antitumorale Rb și p53.

Imunitatea față de papilomavirusuri este mediată celular și asigură vindecarea negilor.

La gazde cu reactivitate imună deficitară negii apar frecvent, după cum frecventă este și evoluția infecției către neoplazia intraepitelială a vulvei și cervixului uterin.

37.3.2. Herpesvirusurile (☞ Capitolul 32)

Virusul herpes simplex transformă cu frecvență scăzută celulele din culturi. Asemenea celule injectate la hamsteri produc tumori. La om virusul herpes simplex a fost corelat, numai epidemiologic, cu carcinomul de col uterin, însă corelația acestei tumori cu papilomavirusul este mai puternică. Nu a fost identificată nici o genă transformantă la virusul herpes simplex, de unde ipoteza că oncogeneza indusă de acest virus implică o mutagenză inserțională mai degrabă decât o proteină virală transformantă. Unele herpesvirusuri animale sunt demonstrat oncogene, de exemplu boala lui Marek, o boală limfoproliferativă foarte contagioasă, a găinilor. Contra bolii lui Marek a și fost preparat un vaccin eficient, o speranță pentru prevenția prin vaccin a cancerelor indubitabil virale. Vaccinuri contra papilomei la animale au fost preparate cu extracte inactivate din negi. Dar o asemenea vaccinare nu a fost practică la om din cauza standardelor de siguranță. Un asemenea vaccin a fost preparat din extracte tumorale inactivate contra tumorilor determinate de papilomavirusuri umane. Standardele de siguranță interzic un asemenea vaccin la om.

Virusul Epstein-Barr (VEB) transformă culturile primare de limfocite B umane în linii continue. La unii copii imunodeficienți infecția acută cu VEB a evoluat în limfoame cu celule B.

Limfomul lui Burkitt este o tumoră care afectează copii din Africa Centrală, iar carcinomul nasofaringian chinezii de sex masculin din Asia de Sud-Est. Celulele ambelor tumori conțin ADN în formă episomală și antigene ale VEB (e.g., antigenele nucleare specifice VEB: EBNA) fără ca să producă virus infectant. Distribuția geografică strict definită a celor două tumori incriminează VEB ca un cofactor oncogen, în condițiile de receptivitate genetică sau condiționate de factori ambientali.

Un vaccin eficient anti-VEB ar putea demonstra indubitabil rolul oncogen direct al virusului.

Virusul citomegalic apare asociat carcinomului cervical uterin la pacientele imunodeficiente și în funcție de tipul HLA.

Herpesvirusul uman 8 este asociat sarcomului Kaposi la bolnavii SIDA.

Exceptând VEB, celelalte herpesvirusuri intervin probabil numai în unul din stadiile oncogenezei prin integrarea lor în genomul celular.

37.3.3. Virusul hepatitei B (☞ Capitolul 35.3.)

Relația între hepatita B și carcinomul hepatocelular a fost sugerată de observații epidemiologice. Riscul pentru carcinom hepatocelular este de 100 ori mai mare la foștii bolnavi de hepatită B decât la martori și acest risc crește cu 40% în coinfecția cu VHC, expunere la toxine fungice, fumat, alcoolism.

Frecvent în infecția cu VHB două sau mai multe fragmente genomice de ADN viral sunt integrate linear în genomul hepatocitelor iar situsurile de integrare pot fi rearanjate. Dar această integrare nu este parte a ciclului replicativ, ca și în cazul retrovirusurilor. Carcinomul hepatocelular are uzual origine monoclonală și practic toate liniile celulare derivate din tumoră conțin unul sau mai multe fragmente de ADN al VHB. Pe baza unor observații făcute pe carcinoame hepatocelulare umane, în oncogeneza prin VHB este incriminat modelul mutagenzei inserționale care dereglează genele de control a creșterii tumorale.

DUMITRU T. BUIUC

„The study of prions has taken several unexpected directions over the past few years. The discovery that prion diseases in humans are uniquely both genetic and infectious has greatly strengthened and extended the prion concept.”

STANLEY B. PRUSINER

Prionii, proteine „infecțioase” lipsite de secvențe nucleotidice capabile să le codifice descendenți așa cum au orice microorganisme și virozii, sunt cauza encefalopatiilor spongiforme numite și boli prionice. Ei sunt izomorfe ale unei proteine normale, codificată de o genă identificată la mai multe specii animale și localizată la om pe brațul scurt al cromosomului 20. Proteina prionică normală, numită curent cu acronimul PrP^c (**proteina prionică celulară**) apare ancorată în membrana externă a celulelor tuturor păsărilor și mamiferelor examinate, inclusiv omul. Nu îi cunoaștem funcția. Izomorfa patogenă PrP^{sc} (s de la scrapie, o boală a oilor, ☞ mai jos), de origine endogenă sau exogenă, fixată pe membrana celulară cauzează leziunile din bolile prionice. Boli prionice cunoaștem la câteva animale și la om. Unele sunt ereditare, adică transmise „pe verticală” prin linia germinativă, altele se transmit și „pe orizontală”, intra sau interspecific, asemănător infecțiilor (tabelul 38-1).

Mai mult de 80 de ani etiologia bolilor prionice a fost subiect de controverse privind etiologia bolii scrapie:

(1) Ipoteza infecției cu un protozoar căruia, în anii 1910, i se găsisse și un nume, *Sarcosporidium*.

(2) Ipoteza unui „virus filtrabil” întărită prin îmbolnăvirea de scrapie, în 1946, a peste 1500 de oi vaccinate contra virusului *lauping-ill* cu un extract formolat de țesut limfoid.

(3) Ipoteza bolii ereditare dedusă din receptivitatea la transmiterea bolii de 100% la capre, dar între 0 și 80% la oi, în funcție de rasă. De unde afirmația că scrapie ar putea fi eradicată prin încrucișări adecvate ale oilor.

Acste controverse au durat până la descoperirea prionilor, în 1988, de către Stanley B. Prusiner. Apoi, pentru un număr de ani prionii au devenit „o enigmă a biologiei”: cum se poate reproduce o moleculă proteică infecțioasă fără a fi asociată unui acid nucleic, ca la orice agent infecțios? Enigma a persistat până la descoperirea în 1992 a genei care codifică prionii.

S. B. Prusiner a rezolvat controversele și enigma prionilor prin studii și experimente care au vizat ambele ipoteze: a bolii infecțioase *versus* boală genetică.

(1) **Teste biologice pentru infectivitatea prionilor.** Prin injecție de extracte cerebrale de la oi bolnave, *scrapie a fost reprodusă experimental* la diferite animale după o perioadă de incubare lungă: șoarecii fac scrapie după un an de la incubare, hamsterii aurii sirieni sunt cu 50% mai receptivi.

Tabelul 38-1 Bolile prionice și etiologia lor (adaptat după S. B. Prusiner, 1998)

Boli	Etiologia
Animale (BPA)	
Scrapie (tramblanda oilor)	Infecțioasă
Encefalopatia transmisibilă a nureilor	Infecțioasă
Encefalopatia spongiformă bovină – BSE (boala vacii nebune)	Infecțioasă
Umane (BPU)	
Kuru	Infecțioasă
Creutzfeld – Jacob (CJD)	
iatrogenă	Infecțioasă
sporadică	Necunoscută
familială	Mutație a PrP ^c
Sindromul Gerstmann – Sträussler – Scheincker (GSS)	Mutație a PrP
Insomnia fatală familială (FFI)	Mutație a PrP
Boala Alzheimer	Mutație a PrP

Infectivitatea extractelor cerebrale prin care era transmisă boala a putut fi titrată. În fracțiunile subcelulare din creierul de hamster îmbogățit pentru infecțiozitatea scrapie, Prusiner a descoperit particule în formă de bastonașe purtătoare de infecțiozitate, absente la martori. Le-a numit *prioni* și le-a precizat următoarele caractere: diametrul de 50 nm, ultrastructură neregulată similară celei a amiloizilor, dar total diferită de structura regulată a virusurilor; proteazele le distrug infectivitatea; au rezistență extremă la radiațiile ultraviolete cu lungimea de undă de 254 nm, cea care inactivează acizii nucleici.

(2) **Contribuția geneticii moleculare.** Descoperirea genei care codifică PrP^c și a mutațiilor punctiforme din diferiții ei codoni, care duc la apariția PrP^{sc}, lămuresc etiologia bolilor prionice ereditare.

Rezistența prionilor la agenții inactivatori ai infecțiozității microorganismelor este impresionantă: autoclavarea la 134°C îi inactivează abia după 18–30 minute, dar există tulpini de prioni scrapie care rezistă până la 90 minute. Deșeurile solide trebuie autoclavate 2 ore la 120°C. Sunt și mai rezistenți în țesuturile fixate cu formol, când se impune autoclavarea de două ori.

Această rezistență explică transmiterea scrapie la vite și apariția recenteii epidemii de BSE. Calea de transmitere: făina de oase care a inclus resturi de la oile bolnave de scrapie ai cărei prioni au rezistat în procesul tehnologic de preparare a făinii. Transmiterea BSE la om sub forma CJD este posibilă prin consumul cărnii de la vitele infectate, chiar prelucrată termic.

Patogenia bolilor prionice. Apariția PrP^{sc} în organism are *origine endogenă*, prin mutații în codonii genei care codifică PrP^c, sau *exogenă*, printr-un proces similar infecției. Infectivitatea prionilor este în prezent înțeleasă ca un fenomen posttranslațional: devierea autoamplificată a configurației sterice a proteinei prionice de la PrP^c la PrP^{sc}.

Deși PrP^{sc} se fixează pe o gamă mai largă de celule, leziuni determină numai în acele țesuturi unde realizează concentrații maxime: creier în toate cazurile, iar în scrapie și în măduva spinării și ochi. Aceste leziuni includ apariția în creier a *plăcilor de amiloid*,

degenerescență spongiformă, glioză, pierdere neuronală în absența oricărei inflamații și răspuns imun. Imunosupresia nu influențează cursul bolii.

Simptomatologia este consecința leziunilor: declin subacut sau cronic al funcțiilor cognitive (demență) sau/și motorii (ataxie) cu debut tipic la adult între vârsta de 40 și 70 ani.

În afara țesuturilor amintite, prionii realizează concentrații mari în ganglionii limfatici, hipofiză și alte glande fără consecințe clinice, dar cu rol demonstrat în transmiterea infectivă a bolilor prionice.

Scurtă privire asupra bolilor prionice umane.

• **Boala Kuru** era, între anii 1957 și 1966, cea mai frecventă cauză de moarte la femeile populației Fore din Noua Guinee: 1739 decese la femei față de numai 248 la bărbați. Boala practic a dispărut odată cu sistarea ritualului canibalic de consumare a creierului rudelor moarte. A fost prima BPU transmisă experimental la animale.

• **Boala Creutzfeld–Jacob** în *forma infecțioasă* poate fi iatrogenă sau prin obiceiuri alimentare. Transmiterea iatrogenă este descrisă după transplante de țesuturi de la donatori infectați (grefe de corne, de dura mater sau de timpan), implante cerebrale de electrozi ori intervenții chirurgicale cu instrumentar contaminat și inefficient sterilizat, terapie cu hormoni de creștere sau gonadotropină din extracte de hipofiză.

Evreii originari din Liban și Israel, care consumă creier și ochi de oaie după prelucrare termică sumară, au o incidență semnificativ crescută a CJD.

În *forma ereditară* a bolii, mutații ale codonului 178 de la aspartat la asparagină sunt găsite la multe familii cu CJD. Evreii cu CJD originari din Libia și Tunisia au o mutație a codonului 200 de la glutamat la lizină.

Dacă alela cu mutația aspartat → asparagină în poziția 178 codifică în poziția 129 valina atunci apare CJD, iar dacă în poziția 129 codifică metionina apare insomnia fatală familială.

În *forma sporadică* CJD rămâne o necunoscută etiologică.

• **Sindromul Gerstmann–Sträussler–Scheincker** este recunoscut numai ca boală ereditară cu variații ale simptomatologiei funcție de codonii mutanți: e.g., mutații de la prolină la leucină în codonii 102 și 105 determină forma ataxică a bolii, în timp ce mutația alanină → valină în codonul 117 – forma demențială și telencefalică.

• **Boala Alzheimer.** În această boală cunoscută numai ca ereditară (sporadică?) au fost identificate mutantele genei care codifică PrP la nivelul codonilor 198 (substituția fenilalaninei prin serină) și 217 (substituția glutamină → arginină).

Diagnosticul de laborator. Pentru confirmarea *intravital* a diagnosticului clinic de BPU analiza lichidului cefalorahidian nu aduce date utile. Dat fiind că BPU evoluează mortal, avem posibilitatea examenului histopatologic al creierului: degenerescență spongiformă, glioză, pierdere neuronală fără reacție inflamatorie. Dacă există depuneri de amiloid, acestea pot fi identificate prin colorații specifice.

Perspective: descoperirile, începând cu anul 1992, privind genetica moleculară a BPU vor permite diagnosticul acestor boli și *intravital* prin tehnici de biologie moleculară utilizând biopsii de țesuturi periferice.

În **concluzie**, prionii diferă de toate microorganismele cunoscute, inclusiv virusurile și virozii. Bolile prionice sunt pseudoinfecții, dar continuăm să utilizăm în acest domeniu al patologiei termeni ca infecție, transmisibilitate, incubatie, titru infecțios doar pentru că multe dintre informațiile pe care le avem provin din protocoale experimentale proprii virologiei.

DUMITRU T. BUIUC

„Ceux qui opposent le laboratoire à la clinique
n'ont jamais rien compris ni à l'un ni à l'autre.”

CHARLES RICHET

Bolile infecțioase au cauze care pot fi cunoscute și, de multe ori, tratate eficient. Tratamentul etiotrop al unei boli infecțioase este o decizie care decurge din diagnosticul etiologic. Observațiile clinico-epidemiologice permit raționamentul medical care duce la ipoteze diagnostice. Una dintre aceste ipoteze este confirmată printr-o nouă serie de observații, care, în general, sunt paraclinice. Astfel, laboratorul de microbiologie clinică este un „instrument” de observație al clinicianului (fig.39-1). Un instrument poate fi folosit bine sau poate fi folosit prost. ***Principalul obiectiv al capitolului de față este însușirea de către viitorii medici a cunoștințelor și deprinderilor pentru folosirea corectă a laboratorului de microbiologie clinică.***

39.1. ERORI ȘI VARIAȚII ÎN INVESTIGAȚIA MICROBIOLOGICĂ CLINICĂ

De la cerere până la emiterea buletinului de analiză microbiologică și însușirea lui de către clinician sunt posibile trei categorii de erori: preanalitice, analitice și post-analitice, fiecare cu responsabilități definite.

(i) **Erorile preanalitice** țin de nerespectarea normelor de prelevare, conservare și transport a fiecărui tip de prelevat patologic. Responsabilitatea revine clinicianului și ajutoarelor sale.

(ii) **Erorile analitice** țin de nerespectarea bunei practici de laborator: competența personalului, controlul de calitate al reactivilor și funcționării aparatelor, alegerea tehnicilor performante.

(iii) **Erorile post-analitice** survin între momentul obținerii rezultatului examinării și însușirea lui de către medic. În principal sunt erori de transcriere a datelor și identificare a pacientului cărui îi aparține rezultatul analizei.

Pentru interpretarea corectă a rezultatelor investigației microbiologice, clinicianul trebuie să cunoască nu numai erorile posibile, ci și **variațiile biologice** ale condiției microbiologice și imunologice a pacienților (e.g., diferitele tipuri de disbioze, particularitățile apărării antiinfecțioase a nou-născutului, a gravidei).

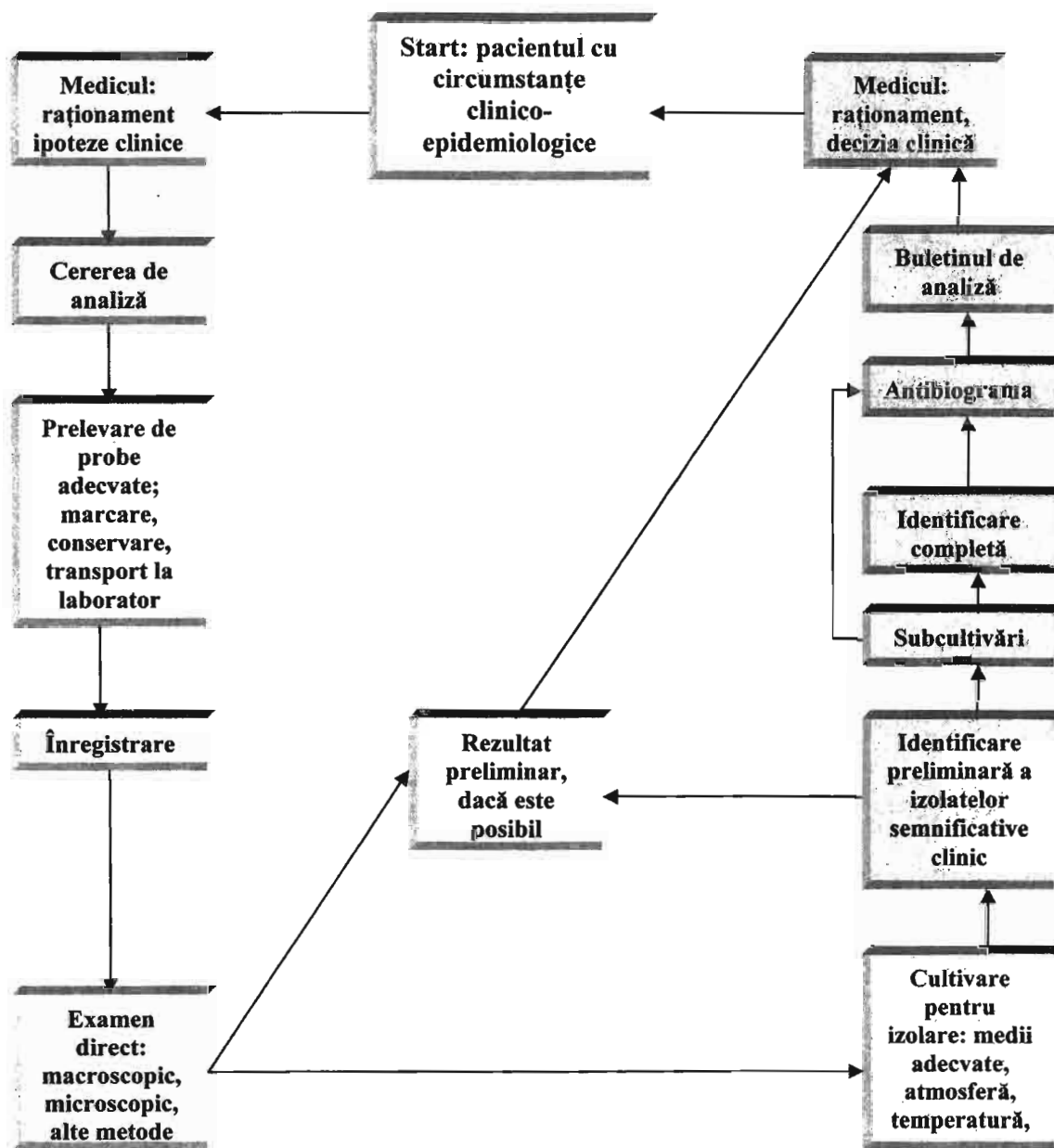


Fig. 39-1 Algoritmul investigației în microbiologia clinică.

39.2. PERFORMANȚELE TESTELOR DE LABORATOR ȘI RELAȚIA COST-BENEFICIU

Un test de laborator trebuie să confirme sau să infirme corect prezența stării morbide presupusă prin ipoteza clinică. Rezultatul testului de laborator poate fi pozitiv sau negativ; ipoteza clinică poate fi corectă (pacientul are boala presupusă) sau incorectă (pacientul nu are boala). Relațiile dintre aceste patru variabile (tabelul 39-1) hotărăsc **performanțele diagnostice ale testului**: sensibilitatea, specificitatea, predicția pozitivă, predicția negativă și eficiența diagnostică.

- **Sensibilitatea** măsoară proporția persoanelor cu boală identificate corect prin test: $a/a+b$.

Diagnosticul de laborator al infecției

- **Specificitatea** măsoară proporția persoanelor fără boală identificate corect prin test: $d/c+d$.
- **Predicția pozitivă** măsoară proporția persoanelor cu boală din totalul celor cu test pozitiv: $a/a+c$.
- **Predicția negativă** măsoară proporția persoanelor fără boală din totalul celor cu test negativ: $d/b+d$.
- **Eficiența** măsoară proporția clasificărilor diagnostice corecte: $a+d/N$.

Din tabelul 39-1 calculăm **prevalența bolii**, proporția persoanelor cu boală în eșantionul studiat: $a+b/N$. Reținem: (i) Când crește prevalența bolii cresc predicția pozitivă, sensibilitatea și specificitatea, dar eficiența testului crește numai dacă sensibilitatea este mai mare decât specificitatea. (ii) Când scade prevalența bolii, predicția negativă, sensibilitatea și specificitatea cresc, dar eficiența crește numai dacă specificitatea este mai mare decât sensibilitatea.

Tabelul 39-1 Corelația unui test de laborator cu circumstanța patologică

Rezultatele testului	Circumstanța patologică		Totaluri
	Prezent	Absent	
Pozitiv (anormal)	a	c	a+c
Negativ (normal)	b	d	b+d
Totaluri	a+b	c+d	N

O aceeași stare morbidă poate fi investigată prin mai multe teste. Unele sunt mai eficiente, altele mai rapide sau mai accesibile unui laborator dat. *Clinicianul trebuie să știe că un test de laborator are un anumit cost, iar laboratorul un anumit buget.* De aceea șeful labo-

ratorului este obligat să pună la dispoziția clinicianului nomenclatorul analizelor pe care le poate efectua respectând relația optimă cost-beneficiu.

39.3. METODELE MICROBIOLOGIEI CLINICE

Laboratorul utilizează pentru diagnosticul infecțiilor metode directe și metode indirecte.

Metodele directe (examenul microbiologic) presupun observarea, izolarea și identificarea microorganismului infectant până la nivele semnificative clinic (caractere microscopice, gen, specie, antibiotip, marcheri de patogenitate) sau epidemiologic (marcheri epidemiologici).

Metodele indirecte sunt nespecifice și specifice. *Nespecifice* sunt testele hematologice (leucograma și formula leucocitară, viteza de sedimentare a hematiilor) și cele pentru cantificarea reactivilor de fază acută. *Specifice* sunt depistarea și cantificarea efectorilor imunitari induși de infecție.

39.3.1. Metode directe (examenul microbiologic)

Pentru diagnosticul infecției examinăm prelevate din cele mai variate zone ale organismului, fiecare cu condiția sa microbiologică naturală, și urmărim o diversitate de microorganisme. De aceea *rezultatele examenului microbiologic depind de:* • *calitatea prelevatelor examinate*, • *schimbul de informații între clinician și microbiolog*, • *eficiența diagnostică a testelor utilizate*.

39.3.1.1. Calitatea prelevatelor pentru examenul microbiologic este asigurată prin respectarea de către personalul medical a normelor de prelevare, transport și conservare a prelevatelor patologice și prin controlul de calitate efectuat de microbiolog la primirea acestor prelevate în laborator.

(A) Reguli generale pentru prelevarea probelor: alegerea prelevatelor și momentul prelevării în raport cu patogenia infecției presupuse și tratamentul antimicrobian, prelevarea aseptică și în cantitate suficientă.

(1) Alegerea prelevatelor și momentul prelevării. Microorganismul infectant trebuie căutat în leziunile determinate, la poarta de intrare a infecției, în curentul sanguin, la nivelul căilor de eliminare apreciate prin examenul și raționamentul clinic. Așa obținem prelevate pe

tampon, prin puncție și aspirație, biopsie sau ca excrete. Stadiul bolii influențează șansa izolării dintr-un prelevat patologic a microorganismului semnificativ.

Prelevatele examinate trebuie să reprezinte realul produs patologic, adică materialul din leziuni care vehiculează microorganismul infectant sau antigene ale sale. În sânge, în lichidul cefalorahidian sau în urină microorganismele antrenate din leziuni sunt repartizate uniform. Distribuția lor însă în probele de spută, fecale, exsudate de pe suprafața mucoaselor sau plăgilor nu este în mod necesar uniformă. Dacă în loc de spută laboratorul primește predominant secreții orofaringiene, în loc de exsudat amigdalian – un tampon îmbibat cu salivă, un răspuns util este imposibil.

Examenul macroscopic oferă date care:

- Pot avea semnificație clinică imediată (e.g., lichid cefalorahidian clar *versus* purulent, scaun fluid *versus* mucosanguinolent, puroi cu sau fără „granulele de sulf” proprii actinomicetoamelor).

- Previn trimiterea spre examinare a unor probe necorespunzătoare (e.g., salivă în loc de spută).

- Permit reperarea realului produs patologic din scaun: porțiunile mucosanguinolente sau fibrinopurulente.

(2) *Prelevă probele înaintea instituirii tratamentului antimicrobian*. După primele ore de antibioticoterapie, chiar inefficientă, bacterioscopia poate deveni negativă, iar izolarea bacteriilor semnificative clinic imposibilă. Oricât de mare ar fi urgența antibioticoterapiei, întotdeauna câteva minute înaintea administrării antibioticului sunt suficiente prelevării corecte a probelor pentru examen microbiologic. Când, excepțional, această normă nu a putut fi respectată, laboratorul avertizat găsește eventuale modalități de neutralizare a antibioticului și de interpretare corectă a rezultatelor examenului.

(3) *Prelevatele patologice trebuie să fie în cantitate suficientă* pentru efectuarea corectă a microscopiei, însămânțărilor sau inoculărilor pe gazde vii. Impun atenție mai ales leziunile sărace în microorganisme, cum sunt cele din infecții cronice.

(4) *Prelevările trebuie făcute aseptice* pentru a:

- Preveni contaminarea probelor cu microorganisme din mediul extern.

- Preveni sau reduce contaminarea probelor cu microbiota indigenă. Orice contaminare a prelevatelor din zone normal sterile duce la rezultate fals pozitive. Riscul contaminării cu microorganisme din microbiota epidermei crește la prelevările prin puncție și aspirație. Contaminarea prelevatelor care traversează zone normal colonizate sau provin din asemenea zone o limităm prin metode diferențiate (☞ Capitolele 43-49). Uneori suntem nevoiți să facem prelevări care șuntează traiectele naturale de eliminare și contaminare (e.g., aspirație suprapubiană a urinei).

- Preveni infectarea pacientului în cursul prelevării, infectarea personalului și contaminarea mediului cu microorganisme patogene. Periculoasă este contaminarea suprafeței externe a recipientelor, spargerea lor. Contaminarea cu sânge și alte umori expune personalul la riscul infecției cu virusurile hepatitei B, C, D sau imunodeficienței umane.

(B) *Recipientele și instrumentele indicate pentru prelevări* sunt cele de unică folosință, din plastic, livrate sterile: seringi, recoltoare cu gură largă și capac etanș, tampoane din vată hidrofiliă sau alginat protejate în tub etanș.

Tamponul de vată este indicat pentru prelevarea și transportul exsudatelor de pe mucoase și țesuturile denudate. *Utilizarea corectă a tamponului impune să reținem că:*

- Prelevă maximum 0,1 mL produs.

- Recuperarea bacteriilor de pe tampon este sub 10%; cel puțin 10⁶ UFC trebuie prelevate pe tampon pentru a putea depista microorganismul pe frotiul colorat Gram. De

Diagnosticul de laborator al infecției

aceea evită utilizarea tamponului ori de câte ori sunt posibile prelevări în cantități mai mari (aspirația exsudatelor fluide, produse de chiuretaj sau biopsii). Prelevă mai multe tamponane dacă examinarea impune microscopie directă și însămânțări pe diferite medii de cultură.

- Polimorfonuclearele se adsorb în scurt timp pe fibrele tamponului. De aceea frotiul din prelevate pe tampon trebuie făcut extemporaneu.

- Prelevarea pe tampon este contraindicată pentru izolarea bacteriilor anaerobe. Probele destinate izolării bacteriilor strict anaerobe trebuie introduse în flacoane ermetic închise sub atmosferă de azot. În lipsa acestora, o modalitate simplă și eficientă este transportul direct în seringă de recoltare din care trebuie îndepărtată orice bulă de aer, iar acul obturat printr-un dop de cauciuc.

(C) Tehnicile pentru prelevarea probelor destinate examenului microbiologic sunt detaliate în Capitolele 40-49.

(D) Transportul și conservarea probelor. Moartea în prelevate a microorganismelor cu semnificație clinică duce la rezultate fals negative. Poate fi cauzată de: razele solare directe; deshidratare; modificări de pH; autoliză în caz de examen tardiv; oxigenul atmosferic în cazul bacteriilor strict anaerobe. De aceea probele trebuie examinate în cel mai scurt timp sau, dacă aceasta nu este posibil, conservate prin medii de transport și/sau refrigerare.

Mediile de transport asigură supraviețuirea microorganismelor prevenind desicarea, variațiile de pH, oxidarea și autoliza.

Refrigerarea. Puține bacterii nu supraviețuiesc la refrigerare: meningococul, gonococul, *Haemophilus influenzae*. Sub 4°C majoritatea microorganismelor patogene supraviețuiesc în intervalul necesar transportului, iar multiplicarea contaminanților este oprită. De exemplu, semiviata majorității virusurilor (intervalul în care infecțiozitatea suspensiei scade cu 50%) este de ore la temperatura camerei, zile la 4°C și luni la -70°C.

În concluzie, nici cele mai performante teste de laborator nu pot oferi un rezultat mai bun decât calitatea prelevatelor examinate. Prelevate de bună calitate – rezultate utile posibile. Prelevate de calitate proastă – rezultate proaste, inutile, periculoase pentru bolnav; bani risipiți.

39.3.1.2. Schimbul reciproc de informații între clinică și laborator. Medicul care solicită un examen microbiologic sau serologic trebuie să însoțească prelevatele cu date informative strict necesare, care sunt cuprinse în *cererea de analiză, parte integrantă a buletinului de analiză* (fig.39-2). Datele informative vizează trei necesități imperative:

(i) *Identificarea probei:* numele, prenumele, vârsta pacientului, data prelevării, spitalul, secția, salonul;

(ii) *Alegerea celor mai adecvate tehnici de prelucrare a probei:* diagnosticul prezumtiv, natura probei, examenul solicitat (în termeni cât mai preciși), precizarea dacă este solicitare pentru un bolnav (inclusiv data debutului bolii), convalescent sau purtător; precizări asupra terapiei antimicrobiene eventuale;

(iii) *Date pentru precizarea responsabilităților legate de recoltare și transport:* data și ora recoltării, data și ora primirii în laborator, medicul care a recomandat analiza.

Importantă pentru evitarea erorilor postanalitice este *etichetarea probelor*. Cea mai sigură este eticheta autoadezivă. În lipsă este utilă eticheta din leucoplast. Pe etichetă trebuie consemnat cu creion negru sau pix cu bilă: numărul cererii de analiză, numele și prenumele pacientului, prelevatul și data.

Microbiologul trebuie să informeze operativ medicul care a solicitat analiza privitor la:

- Eventuala calitate necorespunzătoare a probei și necesitatea unei noi probe.
- Rezultate de etapă cu semnificație clinică și rezultatul final (fig.39-1). Pentru bacteriile cu creștere rapidă, rezultatele trimise mai târziu de 48-96 ore (o săptămână în cazul hemoculturilor) își pierd valoarea.

BULETIN DE ANALIZĂ MICROBIOLOGICĂ/SEROLOGICĂ	
Spitalul/Secția _____	
Nr. de expediere _____	
Numele _____	Prenumele _____ Vârsta _____
Diagnostic prezumtiv _____	
Data îmbolnăvirii _____	
Proba de examinat _____	
Examen(e) solicitat(e) _____	
Antibioticoterapie înainte de prelevarea probei (medicamentul, ora ultimei administrări) _____	
Data prelevării _____	ora _____
Parafa și semnătura (medicul solicitant)	

FAȚĂ

Laboratorul _____
Nr. de primire _____
Primit în laborator în ziua de _____ ora _____
Condițiile în care proba a ajuns în laborator _____
Rezultatul analizei _____

Parafa și semnătura (medicul șef de laborator)

VERSO

Fig. 39-2. Cererea și buletinul de analiză

39.3.1.3. Tehnici rapide

(A) **Microscopia directă** este hotărâtoare pentru aprecierea obiectivă a calității prelevatelor contaminate pe traiectele de eliminare și identificarea preliminară a microorganismelor cu semnificație clinică.

Colorațiile Gram și Ziehl-Neelsen permit controlul calității probelor, aprecierea reacției inflamatorii și bacterioscopia. Colorația May Grünwald Giemsa are indicații mai restrânse: diferențiază precis tipurile de celule inflamatorii, depistează incluziunile chlamidiale pe frotiuri din raclatul unor mucoase, borrelii și protozoare pe frotiurile din sânge, levuri intracelulare. Pe preparate umede între lamă și lamelă depistăm fungii din variate prelevate

Diagnosticul de laborator al infecției

patologice, fungi sau actinomicete în puroiul micetoamelor, borrelii în plasma bolnavilor cu febră recurentă, treponeme în exsudatul unor leziuni cutanate sau ale mucoaselor, protozoare.

(1) *Controlul microscopic al calității prelevatelor contaminate cu microbiota mucoaselor acoperite de epiteliu pavimentos stratificate*: spută, aspirat duodenal etc.

Examinăm uzual, cu mărire de 100 X, frotiul colorat Gram pe care alegem câmpuri cu dispersie relativ uniformă, în monostrat, a celulelor. Numărăm celulele inflamatorii (CI) diferențiat de cele epiteliale scuamoase (CES) și calculăm media pentru 5-10 câmpuri. Acordăm calificative pozitive pentru CI și fibrină și negative pentru CES conform tabelului 39-2. Așa proba de spută ilustrată în CD 9-12 are scorul $Q = +3$, rezultat din suma algebrică a calificativelor +2, +1 și 0 acordate pentru cele > 25 CI, prezența fibrinei și respectiv pentru cele 0 CES/câmp microscopic la mărirea de 100 X, în timp ce proba de spută ilustrată în CD 9-14 are scorul $Q = 0$ (+2 pentru > 25 CI, 0 pentru absența fibrinei și -2 pentru cele > 25 CES).

Tabelul 39-2 Calificativele pentru stabilirea scorului „Q” de calitate microscopică a prelevatelor destinate examenului bacteriologic

Număr celule per câmp microscopic (mărire de 100 X)	Calificative pentru celule inflamatorii (CI)		Calificative pentru celule epiteliale scuamoase (CES)
	Spută	Alte produse	Toate produsele
0	0	0	0
1-9	0	+1	0
10-24	+1	+2	-1
≥ 25	+2	+2	-2

Semnificația clinică a bacteriilor oportuniste poate fi stabilită numai în probe cu scorul $Q \geq +1$. Patogenii care nu fac parte din microbiota indigenă au semnificație și când sunt depistați în probe cu scorul $Q < +1$, dar, în această situație, sensibilitatea examenului microbiologic scade odată cu scorul de calitate al probelor. De aceea examinarea probelor cu scorul $Q < +1$ trebuie temporizată, iar medicul care a solicitat analiza va fi informat telefonic: „*Probă cu contaminare masivă, improprie pentru examinarea bacteriologică. Repetați prelevarea cu respectarea normelor specifice*”. Dacă o nouă probă cu proporție mai mare de real produs patologic poate fi obținută, renunțăm la prima probă.

(2) *Caracterele reacției inflamatorii* ne orientează către cauzele acesteia:

- Predominanța polimorfonuclearelor neutrofile indică inflamație acută determinată cel mai frecvent de bacterii piogene.

- Predominanța limfocitelor și macrofagelor semnifică o infecție virală, o inflamație specifică determinată de microorganisme facultativ intracelulare sau o reacție inflamatorie de corp străin.

- Prezența în număr mare a eozinofilelor semnifică inflamație alergică.

(3) *Bacterioscopia*. Prezența în medie a 1-2 bacterii/câmp microscopic la mărire de 1000 X corespunde unei concentrații de cca 10^5 bacterii/mL probă iar a ≥ 10 bacterii/câmp corespunde la $\geq 10^6$ bacterii/mL probă. Putem observa 1 bacil acidorezistent per frotiu numai când concentrația acestora depășește 10^4 /mL probă de spută.

În prelevate contaminate pe traiectele de eliminare, semnificația clinică a bacteriilor din acele categorii microscopice prezente și în microbiota de contaminare poate fi stabilită numai prin citobacterioscopia cantitativă la mărirea standard de 1000 X. *Principiu*:

- Realul produs patologic este caracterizat prin abundența celulelor inflamatorii.

• Materialul de contaminare (orofaringiană a sputei, vaginală sau vulvară a urinei micșionate) este caracterizat prin prezența celulelor epiteliale scuamoase încărcate cu numeroase bacterii aderente (CD 9-15).

• Primul postulat al lui Koch poate fi reformulat: „Într-o boală infecțioasă microorganismul care a determinat-o este depistat în asociație semnificativă cu leziunile pe care le-a determinat ori cu *reperetele lor citologice adică, în primul rând, celulele inflamatorii*”.

Pe frotiul colorat Gram al probelor cu scorul de calitate $Q \geq +1$ trebuie selectate câmpuri microscopice cu ≥ 3 celule inflamatorii și fără celule epiteliale scuamoase la o distanță de cel puțin trei diametre, în orice direcție. Numai pe asemenea câmpuri determinăm numărul mediu al bacteriilor din aceeași categorie microscopică și facem o medie/câmp. *Numim asociație semnificativă a bacteriilor cu celulele inflamatorii prezența pe asemenea câmpuri a unui număr de bacterii, din aceeași categorie microscopică, corespunzător concentrației pe care acestea o realizează în focarul de infecție.* Să analizăm două exemple: (i) La un bolnav cu pneumonie aspiratul transtraheal conține bacteria infectantă în concentrații $\geq 10^6$ UFC/mL; în spută vor fi deci semnificative ≥ 10 bacterii din aceeași categorie microscopică/câmp asociate celulelor inflamatorii (CD 9-13). (ii) În aspiratul suprapubian majoritatea pacienților cu infecții ale tractusului urinar au $\geq 10^5$ bacili gram-negativi/mL; într-o probă de urină prinsă în zbor din jetul mijlociu va fi deci semnificativ ≥ 1 bacil gram-negativ asociat cu ≥ 1 leucocit/câmp microscopic.

(B) Depistarea antigenelor microbiene în exsudate (spută, exsudat faringian, exsudate din cavitățile seroase), umori (l.c.r., ser sanguin) sau excrete (urină, fecale) o putem realiza printr-o varietate de tehnici dintre care remarcăm, prin sensibilitate, rapiditate și accesibilitate: coaglutinarea, latexaglutinarea și ELISA.

La pacienți sub antibioticoterapie oarbă sensibilitatea depistării antigenice o depășește pe cea a izolării.

(C) Metode ale biologiei moleculare au ameliorat mult sensibilitatea diagnosticului microbiologic, chiar peste sensibilitatea izolării microorganismelor. Varietatea sondelor ADN și a primerilor pentru amplificarea genică (PCR) comercializați este în creștere.

39.3.1.4. Izolarea microorganismului infectant este tehnica de referință pentru diagnosticul etiologic al infecțiilor. Multe bacterii patogene și condiționat patogene pot fi izolate în aerobioză pe agar-sânge. Pentru izolarea unor organisme fastidioase trebuie utilizate medii speciale și diversificate condițiile de incubare. Mediile de îmbogățire, diferențiale și selective, culturile de celule sau alte gazde de laborator sunt particulare pentru fiecare patogen sau grup de patogeni. Prelevatele examinate și condițiile clinico-epidemiologice orientează alegerea tehnicilor de izolare.

În tabelul 39-3 puteți urmări sensibilitatea și intervalul de timp necesar diagnosticului direct prin variate metode și tehnici.

Semnificația clinică a izolatelor o apreciem în funcție de patogenitate, condiția microbiologică a prelevatelor și contextul clinic.

(i) *Cazul prelevatelor necontaminate.* Însăși izolarea unui microorganism din asemenea prelevate îi conferă semnificație clinică. Când izolăm însă în hemoculturi o bacterie condiționat patogenă rezidentă în microbiota epidermei sau care poate fi ocazional translocată prin epiteliul intestinal, sunt necesare câteva argumente suplimentare: decontaminarea riguroasă a suprafeței prin care punționăm tegumentul pentru aspirarea probei, izolarea repetată a aceleiași bacterii, condiția clinică a pacientului (☞ Capitolul 40).

(ii) *Cazul prelevatelor contaminate pe traiectele de eliminare.* Izolarea unor microorganisme patogene sau oportuniste care nu fac parte din microbiota indigenă a

Diagnosticul de laborator al infecției

traectelor de contaminare are semnificație clinică (e.g., izolarea bacililor tuberculozei din spută). Semnificația izolării unor microorganisme care contaminatează uzual aceste prelevate o argumentăm prin:

- *Criteriul izolării cantitative* (concentrația din probă de același ordin de mărime cu cea cunoscută a fi realizată în focarul de infecție, dar semnificativ mai mare decât cea rezultată prin contaminarea uzuală a prelevatului).

- *Criteriul asociației semnificative cu celule inflamatorii* a unui organism din aceeași categorie microscopică. Izolarea în cantitate mare a unui microorganism condiționat patogen în lipsa inflamației semnifică numai o colonizare abortivă a cavității din care provine proba (e.g., colonizarea urinei vezicale).

Tabelul 39-3 Tehnici ale diagnosticului microbiologic

Tehnici	Microorganisme detectate	Limita detectării ¹⁾	Timpul necesar pentru diagnostic
Microscopice			
Gram	Bacterii	10^5 UFC/mL	30 min.
Ziehl-Neelsen	Micobacterii	$\geq 10^4$ UFC/mL	2 ore
Variate colorații	Protozoare, fungi ș.a.	$10^5 - 10^6$ /mL	1 oră
Imunofluorescența	Bacterii	$10^5 - 10^6$ UFC/mL	1 – 3 ore
	Virusuri	$10^5 - 10^6$ UFP/mL	
Microscopie electronică	Virusuri	$10^4 - 10^5$ UFP/mL	30 min.
Imunologice			
ELISA		ng/mL	2 – 8 ore
Coaglutinare (CoA)		ng/mL	2 – 60 min.
Latexaglutinare (LA)		ng/mL	2 – 60 min.
Contraimunelectroforeză (CIE)		μg/mL	60 min.
Biologie moleculară			
Sonde ADN		10^4 copii ADN	ore
Amplificare genică		10 copii ADN	ore
Izolare și identificare			
	Bacterii cu creștere rapidă		2 – 7 zile
	Idem antibiograma		18 ore – 5 zile ²⁾
	Micobacterii		4 – 8 săptămâni
	Idem antibiograma		4 – 16 săptămâni
	Bacterii anaerobe		2 – 14 zile
	<i>Brucella</i>		21 zile
	Leptospire		30 zile
	Fungi		4 – 6 săptămâni
	Virusuri		3 zile – 4 săptămâni

¹⁾ Limita detectării exprimată în UFC, UFP (unități formatoare de colonii, respectiv plaje).

²⁾ Funcție de necesitatea identificării sau nu a bacteriei cu semnificație clinică înaintea antibiografei.

Eficiența examenului cantitativ crește prin: • reducerea contaminării în timpul recoltării (prelevare curată); • decontaminarea unor prelevate (spălarea sputei pentru îndepărtarea salivei); • prevenirea multiplicării contaminanților până la examinarea probei; • triajul citologic de calitate al probelor.

(iii) *Cazul prelevatelor din zone normal colonizate*. Identificarea tuturor izolatelor din asemenea probe este inutilă. Urmărim numai principalele microorganisme patogene, în funcție de sindromul clinic (e.g., izolarea *Streptococcus pyogenes* din exsudatul faringian al pacienților cu faringită). Numai absența din probă a unei bacterii patogene, care să explice tabloul clinic, orientează investigația spre rolul etiologic al unora dintre bacteriile condiționat patogene izolate, al unor virusuri, fungi sau protozoare. Implicarea etiologică a microorganismelor condiționat patogene izolate în asemenea situații o facem pe baza:

• Testelor care caracterizează fenotipurile patogene ale unor bacterii (e.g., patotipurile diareigene de *Escherichia coli*);

• Autoserodiagnosticului: apariția sau creșterea semnificativă în cursul bolii a titrului anticorpilor față de izolatul incriminat.

În microbiologia clinică nivelul identificării izolatelor și ordinea de studiu a caracterelor sunt subordonate necesităților terapeutice, antiepidemice și raportului cost-beneficiu. Astfel, pentru izolatele cu semnificație clinică putem face antibiograma înaintea identificării speciei; identificarea o putem face numai până la nivel de specie sau numai de gen; markerii epidemiologici îi identificăm în măsura utilității lor în diagnosticul și combaterea unui fenomen epidemic.

39.3.2. Metode indirecte pentru diagnosticul infecției

39.3.2.1. Metode indirecte nespecifice. Leucograma, formula leucocitară, viteza de sedimentare a hematiilor – VSH (tabelul 39-4) și concentrația proteinei C reactive – CRP (tabelul 39-5) pot, într-un context clinic dat, să orienteze diagnosticul către boală infecțioasă cu diferențiere între etiologia bacteriană și cea virală.

Tabelul 39-4 Valorile normale ale VSH și variațiile ei în diferite stări de boală

Valori normale	1 oră	2 ore
Adulți: Bărbați	1-10 mm	7-15 mm
Femei	2-13 mm	12-17 mm
Copii mici/sugari		9-12 mm
• Creșteri majore:		
infecții bacteriene: septicemii, endocardite, pneumonii, meningite, tuberculoză ș.a.		
hemopatii: leucoze, reticuloze, mielom, boala Hodgkin, macroglobulinemia Waldenström		
nefroze		
infarctul miocardic		
• Creșteri minore, nesemnificative: viroze		

Tabelul 39-5 Condiții patologice asociate cu creșterea concentrației serice a proteinei C reactive (după M. B. Pepys)

Creșteri majore	Creșteri minore
• Infecții (vezi textul) • Complicații alergice ale infecțiilor (febra reumatică, eritem nodos) • Boli inflamatorii cronice • Necroze • Neoplazii maligne • Traumatisme • Arsuri • Rejecția alogrefei	• Lupus eritematos sistemic • Scleroze sistemice • Dermatomiozite • Colite ulcerative • Leucemii • Reacția grefă contra gazdă

Creșteri majore ale concentrației CRP determină bolile infecțioase în care terapia antimicrobiană este necesară și posibilă (tabelul 39-6). În schimb, infecțiile virale determină cel mult un răspuns moderat, de multe ori datorat suprainfecției bacteriene. Excepție fac infecțiile sistemice cu virusul herpes simplex sau citomegalic în care creșterea concentrației serice a CRP este importantă.

Cinetica foarte rapidă a CRP (tabelul 39-7) face din dozarea acestui reactiv de fază acută un important test pentru monitorizarea antibioticoterapiei infecțiilor grave (e.g., endocardite, septicemii, meningite). Simptomele și semnele clinice, testele de funcție a organului afectat ș.a. variază cu întârzieri de ore sau zile față

Diagnosticul de laborator al infecției

de CRP. Febra, leucocitoza, neutrofilia pot lipsi la unii pacienți; VSH este larg condiționată de forma și numărul hematiilor, de concentrația fibrinogenului, α -globulinelor și imunoglobulinelor plasmatice care, toate, spre deosebire de CRP, au semiviată de zile sau săptămâni.

Particularitățile cinetice ale CRP sunt integral valorificate pentru diagnosticul și monitorizarea terapiei antimicrobiene a unor boli infecțioase dacă utilizăm dozarea prin latexaglutinare sau imunoturbidimetrie, metode rapide (30-60 minute) și foarte sensibile (ng/mL). Imunodifuzia radială simplă (testul Mancini) are sensibilitate redusă (10 μ g/mL) cu rezultat abia după 24 ore.

39.3.2.2. Metode indirecte specifice. Urmărim răspunsul imun al pacienților la antigene ale microorganismului infectant prin teste *in vitro* (diagnosticul serologic) și teste *in vivo* (intradermoreacții).

Tabelul 39-6 Principalele infecții care determină creșteri masive ale concentrației serice a proteinei C reactive (după M. B. Pepys)

- Endocardită și septicemii
- Meningite cu bacterii piogene, meningita tuberculoasă
- Pneumonii bacteriene
- Procese supurative: abcese, osteomielite
- Infecții postoperatorii sau după alte proceduri invazive
- Apendicite acute
- Recăderi infecțioase după chirurgie abdominală pentru sepsis
- Peritonite la pacienții cu dializă peritoneală cronică
- Chorioamniotite după ruptura precoce a membranelor
- Infecția gonococică generalizată (diferențiere de cea localizată)
- Micoze profunde
- Infecții cu protozoare: malarie, toxoplasmoză etc.
- Infecție sistemică cu virusurile herpes simplex și citomegalic

Tabelul 39-7 Cinetica proteinei C reactive în cursul răspunsului adaptativ la boală (după M. B. Pepys)

- Concentrații serice normale: 0,07-10 mg/L
- Creștere rapidă după un stimul acut¹:
 - precede semnele clinice cu cca 24 ore
 - cantitățile se dublează cel puțin la 24 ore
 - maximum atins la cca 50 ore de la declanșarea stimulului
- Persistă cât persistă starea patologică
- Scădere rapidă după încetarea stimulului:
 - semiviată de 24 ore
 - normalizarea concentrației în câteva zile
- Răspunsul apare la toate vârstele, inclusiv la prematuri și vârstnici²
- Răspunsul apare și la gazda imunocompromisă²
- Nu există persoane integral deficiente în CRP (excepție insuficiența hepato-celulară severă)

¹ 1 oră după stimularea prin endotoxină; 1-2 ore după infarctul de miocard; 6 ore după intervenții chirurgicale.

² Condiții în care simptome și semne ale infecției pot lipsi.

Indicațiile diagnosticului seroimunologic:

• Agent etiologic cantonat în focare inabordabile prelevării (e.g., infecția sifilitică latentă sau în stadiul terțiar, leziuni tuberculoase, bruceloza cronică).

• Agentul etiologic nu este cultivabil (e.g., treponeme patogene) sau laboratorul nu are condiții pentru cultivare (e.g., virusuri, chlamidii, rickettsii).

- Izolarea agentului etiologic nu a fost posibilă din cauza unor deficiențe ale investigației microbiologice (investigare tardivă, tehnici insuficient de sensibile, antibiotico-terapie oarbă înainte de prelevarea probelor).

- Când există dubii asupra semnificației clinice a unor izolate (e.g., enterovirusurile).

Dezavantaje. Diagnosticul seroimunologic este dependent de:

- Capacitatea pacientului de a monta răspuns imun.

- Intervalul până la apariția efectorilor imunitari.

(A) Serodiagnosticul

Erori preanalitice decurg din nerespectarea momentului indicat pentru prelevare (☞ mai jos), contaminarea probelor și liza hematiilor.

Criterii de semnificație clinică a anticorpilor depistați sunt: seroconversia, dinamica semnificativă sau titrul semnificativ al anticorpilor, depistarea anticorpilor IgM.

- *Seroconversia și dinamica semnificativă a anticorpilor* pot fi urmărite numai pe probe de ser prelevate în dinamică: o probă precoce, prelevată la prezentarea bolnavului, și o probă tardivă, prelevată 1-3 săptămâni mai târziu. Ambele probe trebuie testate concomitent. Absența anticorpilor în prima probă și apariția lor în cea de a doua o numim seroconversie. Dinamica semnificativă se traduce prin creșterea de cel puțin patru ori a titrului anticorpilor în a doua probă de ser față de prima.

- *Titrul semnificativ* ne este util când dispunem de o singură probă de ser prelevată după o săptămână de la debutul bolii. Antistreptolizina O la titruri mai mari de 200 U semnifică infecție streptococică în antecedentele imediate; aglutininele față de antigenul O al bacilului tific sunt sugestive pentru febra tifoidă la titruri de 1:160 și asigură certitudinea diagnosticului la titruri de 1:400.

- *Dozarea anticorpilor IgM*, anticorpii răspunsului imun primar. Anticorpii IgM care au reacționat cu antigenul sunt identificați prin seruri antiglobulinice marcate fluorescent sau enzimatic. Diferențierea anticorpilor IgM de cei IgG permite diagnosticul precoce al unor infecții congenitale ca sifilisul, toxoplasmoza, infecția cu virus citomegalic; anticorpii IgM sunt produși de nou-născutul infectat, iar cei IgG sunt primiți transplacentar de la mamă.

(B) Intradermoreacțiile. Injectăm intradermic o cantitate determinată de antigen și urmărim, după caz, reacția de sensibilizare sau reacția de neutralizare care apare.

- *Intradermoreacții care depistează sensibilizarea de tip întârziat* în infecții cu microorganisme facultativ intracelulare. Sensibilizarea de tip întârziat apare după cca 4 săptămâni de la debutul infecției și persistă pe toată durata evoluției infecției latente sau cronice. O reacție negativă exclude infecția corespunzătoare (cu condiția ca pacientul să fie imunoreactiv). O reacție pozitivă trebuie interpretată în contextul clinico-epidemiologic pentru a diferenția boala determinată de microorganismul respectiv de o altă boală care evoluează pe fondul infecției latente.

- *Intradermoreacții de neutralizare.* Injectăm o toxină cu efect asupra dermului și urmărim neutralizarea acestui efect prin antitoxina omoloagă din serul persoanei testate. Așa este intradermoreacția Schick prin care urmărim receptivitatea la difterie: persoanele cu i.d.r. Schick negativă (toxina difterică neutralizată de anticorpi circulanți) semnifică imunitate antidifterică; cele cu i.d.r. Schick pozitivă (toxina difterică și-a exercitat efectul dermo-necrotic) sunt receptivă la difterie.

39.3.3. Reacții antigen-anticorp utile în microbiologia clinică

(1) **Reacții de precipitare.** Antigenul solubil formează cu anticorpul omolog un complex insolubil. Reacția poate avea loc în mediu lichid (reacții de precipitare inelară în tub capilar la interfața reactivilor; reacții de floculare în amestecul reactivilor) sau în mediu gelificat (reacții

Diagnosticul de laborator al infecției

de imunodifuzie, imunelectroforeză). Sunt cel mai puțin sensibile. Utilizarea lor este restrânsă la titrarea antitoxinelor (testul de floclurare) sau depistarea unor toxine (testul de imundublă-difuzie Elek).

(2) **Reacții de aglutinare.** Cuplarea unui antigen în suspensie cu anticorpul omolog formează un aglutinat sub formă de mase vizibile, care se depun și lasă supernatantul limpede. Reacțiile de aglutinare sunt reacții sensibile. După modul de prezentare a antigenului în reacție deosebim: reacții de aglutinare directă, testul Coombs și reacții de aglutinare pasivă pentru detectarea anticorpilor sau a antigenelor.

• *Reacțiile de aglutinare directă* folosesc ca antigen o suspensie bacteriană. Pot fi calitative, efectuate pe lamă, pentru identificarea unui antigen bacterian (fig.39-3). Titrarea anticorpilor o facem prin diluții seriate, în tuburi, a serului testat peste care adăugăm o cantitate fixă din suspensia antigenică (fig. 39-4). Aglutinarea în tuburi o folosim pentru diagnosticul febrei enterice (reacția Widal) sau brucelozei (reacția Wright).

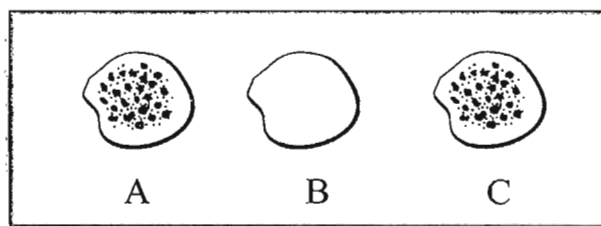


Fig. 39-3 Identificarea unei salmonele prin aglutinare pe lamă. Aglutinare cu serul polivalent anti-*Salmonella* (A) și cu serul anti-*Salmonella* grup C (C), dar nu și cu serul anti-grup B (B), este deci o *Salmonella* grup C. Reacția negativă cu serul anti-grup B a atestat stabilitatea suspensiei testate.

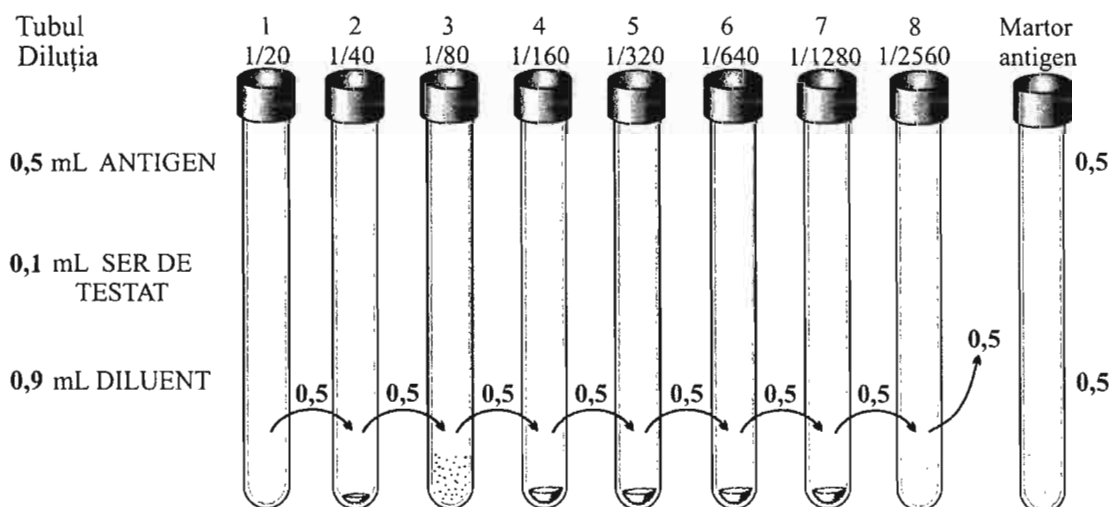


Fig. 39-4 Aglutinarea în tuburi pentru titrarea anticorpilor. Titrul aglutinelor în serul testat este 1/1280. La diluția 1/20 lipsește aglutinarea datorită excesului de anticorp (fenomen de prozonă). Observați "umbrelă" aglutinatului depus pe fundul tubului; Tubul 3 a fost agitat pentru observarea caracterului grunjos al aglutinatului cu antigen O.

• *Testul Coombs.* Uneori fixarea anticorpilor pe determinanții antigenici bacterieni nu determină aglutinare. Așa se întâmplă când în bruceloză apar anticorpi numiți blocanți. În acest caz toate tuburile cu reacție negativă sunt centrifugate, iar antigenul brucelic sedimentat

este spălat cu soluție salină izotonă (pentru îndepărtarea imunoglobulinelor fixate nespecific) și resuspensionat la volumul inițial. Acum în toate tuburile este adăugată o cantitate fixă de ser antiglobulinic uman. Aglutinarea în această etapă indică prezența anticorpilor blocați.

• **Reacțiile de aglutinare pasivă.** O suspensie de hematii sau de particule inerte (latex, microcristale de colesterol) este „sensibilizată” prin „coafare” cu un antigen bacterian. Anticorpul reacționează cu antigenele și aglutinează particulele sensibilizate. Dacă suportul antigenelor sunt hematiile vorbim de o reacție de hemaglutinare pasivă. Prin asemenea reacții de aglutinare pasivă titrăm în treponematoze anticorpul antilipoidici (testul VDRL) sau specifici (hemaglutinare pasivă). Reacția de aglutinare pasivă este mai sensibilă decât cea de aglutinare directă.

• **O variantă a reacției de aglutinare pasivă** folosește pentru depistarea și identificarea antigenelor direct în prelevatele patologice. Dacă pe particulele de latex fixăm anticorpi specifici (poli sau monoclonali), suspensia va aglutina în prezența antigenelor omologe. În această variantă latexaglutinarea este larg folosită pentru detectarea antigenelor polizaharidice bacteriene în diagnosticul anginelor cu streptococi grup A și a meningitelor bacteriene, rar pentru diagnosticul virozelor respiratorii.

• **Reacția de coaglutinare** înlocuiește particulele de latex cu stafilococi bogați în proteină A, care fixează anticorpul prin porțiunea lor Fc lăsând libere, și reacționale, porțiunile Fab. Reacția de coaglutinare este mai utilă pentru identificarea antigenelor din culturi bacteriene decât pentru detecția lor directă în prelevate patologice.

(3) **Reacția de fixare a complementului.** Complexele antigen-anticorp le detectăm grație proprietății lor de a fixa complementul seric (fig.39-5). Este o reacție sensibilă pe care o folosim pentru serodiagnosticul multor viroze.

		Reacție pozitivă	Reacție negativă
P R I M A R E A C Ţ I E	Ser imun (anticorp)*	+	—
	Antigen microbian	+	+
	Complement**	+	+
A D O U A R E A C Ţ I E	Hematii de oaie	+	+
	Ser hemolitic antioaie	+	+
		Absență hemoliză	Hemoliză

Fig. 39-5 Principiul RFC. Două complexe antigen-anticorp își dispută complementul: primul format din antigenul de referință și anticorpul necunoscut din serul sanguin; Al doilea, numit indicator sau cuplu hemolitic este format din hematii de oaie și ser antihematii de oaie. Complexul antigen-anticorp format în prima reacție fixează complementul încât a doua reacție nu mai are loc și hematiile rămân intacte. Dacă prima reacție nu are loc, complementul rămâne la dispoziția cuplului hemolitic și determină hemoliză. Prin urmare, în RFC lipsa hemolizei = reacție pozitivă; hemoliză = reacție negativă.

* Decomplementat prin încălzire 30 min la 56°C.

** Drept complement folosim amestec de seruri de la cobai normali.

(4) **Reacțiile de neutralizare.** În esență, în aceste reacții sunt implicate antigene virale sau toxine a căror legare de receptori celulari este urmată de efecte definite (infecție, hemaglutinare, hemadsorbție, intoxicație). După reacția cu anticorpul omolog aceste antigene nu se mai pot fixa pe receptori celulari, sunt neutralizate.

Diagnosticul de laborator al infecției

• **Neutralizări.** Într-o variantă urmărim supraviețuirea animalelor receptive după injectarea amestecului imunoser-virus sau imunoser-toxină; blocarea efectului citopatic după inocularea amestecului în culturi de celule. O variantă a reacției de neutralizare este testul de seroprotecție în care urmărim capacitatea unei antitoxine, injectate în prealabil la un animal receptiv, de a preveni efectele specifice ale unei toxine.

Frecvent folosită în laboratorul clinic este dozarea antistreptolizinei O bazată pe neutralizarea efectului hemolitic al streptolizinei O.

• **Reacții de inhibare a hemaglutinării (RIH)** sunt uzual folosite pentru identificarea virusurilor hemaglutinante și în serodiagnosticul infecțiilor determinate de asemenea virusuri. În condițiile necesare hemaglutinării (pH, temperatură), peste diluțiile de ser sanguin adăugăm o doză determinată de hemaglutinină. După intervalul necesar reacției adăugăm cantități fixe din suspensia de hematii. În prezența anticorpilor inhibitori omologi hematiile sedimentează în buton (reacție pozitivă). În absența acestor anticorpi, hematiile sunt aglutinate și formează o peliculă care tapisează fundul tubului sau godeului de reacție (reacție negativă).

(5) **Reacții cu anticorpi marcați** detectează și identifică un antigen fixat pe diferite suporturi (frotiu, plastic, membrană de nitroceluloză ori nylon).

• **Imunofluorescența** este un test sensibil. Anticorpi marcați cu fluorocromi (fluoresceină, rodamină) devin valoroși reactivi pentru localizarea și identificarea a variate antigene pe frotiuri, culturi de celule, secțiuni histologice sau depistarea anticorpilor (fig. 39-6).

TEHNICA DIRECTĂ



TEHNICA INDIRECTĂ

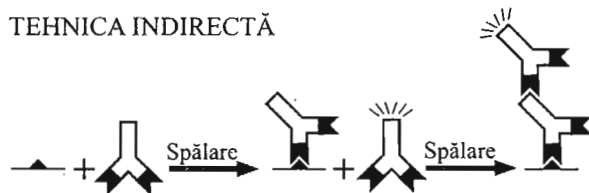
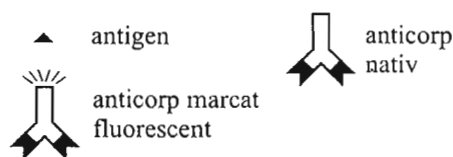


Fig. 39-6 Principiul colorației imuno-fluorescente. **Tehnica directă:** anticorpul omolog este marcat cu fluorocrom. **Tehnica indirectă:** fixarea anticorpului omolog pe antigenul din frotiu este revelată de un anticorp antiimunoglobulină de o anumită clasă, marcat fluorescent.



Tehnica directă folosește anticorpi marcați specifici pentru fiecare antigen. Este un test restrictiv prin numărul mare de imunoconjugate fluorescente necesare. În laboratorul clinic folosește pentru identificarea treponemei sifilisului în leziunile primare.

Tehnica indirectă, care folosește imunoconjugate antiglobulină umană, permite serodiagnosticul unor boli infecțioase, folosește un număr limitat de imunoconjugate, identifică clasa imunoglobulinelor implicate în reacție și este mai sensibilă decât tehnica directă pentru că mai mult anticorp marcat aderă per situs antigenic.

• **Reacțiile imunoenzimaticе (EIA = Enzyme Immunoassay)** folosesc ca indicator un substrat cromogen asupra căruia acționează enzima de marcă (peroxidază din hrean sau fosfatază alcalină). Rezultatele sunt citite spectrofotometric. Sensibilitatea EIA este foarte mare. Dintre EIA reținem: ELISA (**Enzyme-Linked Immunosorbent Assay**), cu mai multe variante tehnice, și testul **Immunoblotting** (numit arbitrar *Western blot*).

Largă utilizare are ELISA. Să urmărim două dintre multiplele variante utilizate (fig.39-7):

ELISA pentru detectarea antigenului. Anticorpul specific pentru un antigen dat este adsorbit în godeurile unei plăci din plastic pentru microtitrare. Proba care conține antigenul este incubată în godeu apoi godeul este spălat. Urmărim complexarea imună a antigenului prin incubarea cu un anticorp omolog marcat cu enzimă urmată de o nouă spălare a godeului. Adăția substratului cromogen pentru enzimă detectează, prin reacție colorimetrică, antigenul complexat. Așa pot fi detectate direct în probe rotavirusuri, *Chlamydia trachomatis* și alte câteva bacterii.

ELISA pentru detectarea anticorpilor. Antigenul fixat pe plasticul godeurilor reacționează cu anticorpul omolog din proba de ser. După incubare și spălarea godeurilor adăugăm anticorp antiimunoglobulină umană marcat cu enzimă. După o nouă incubare și spălare adăugăm substratul cromogen și detectăm, prin reacția colorimetrică, anticorpul complexat. În această variantă ELISA identifică și clasa de imunoglobulină căreia îi aparține

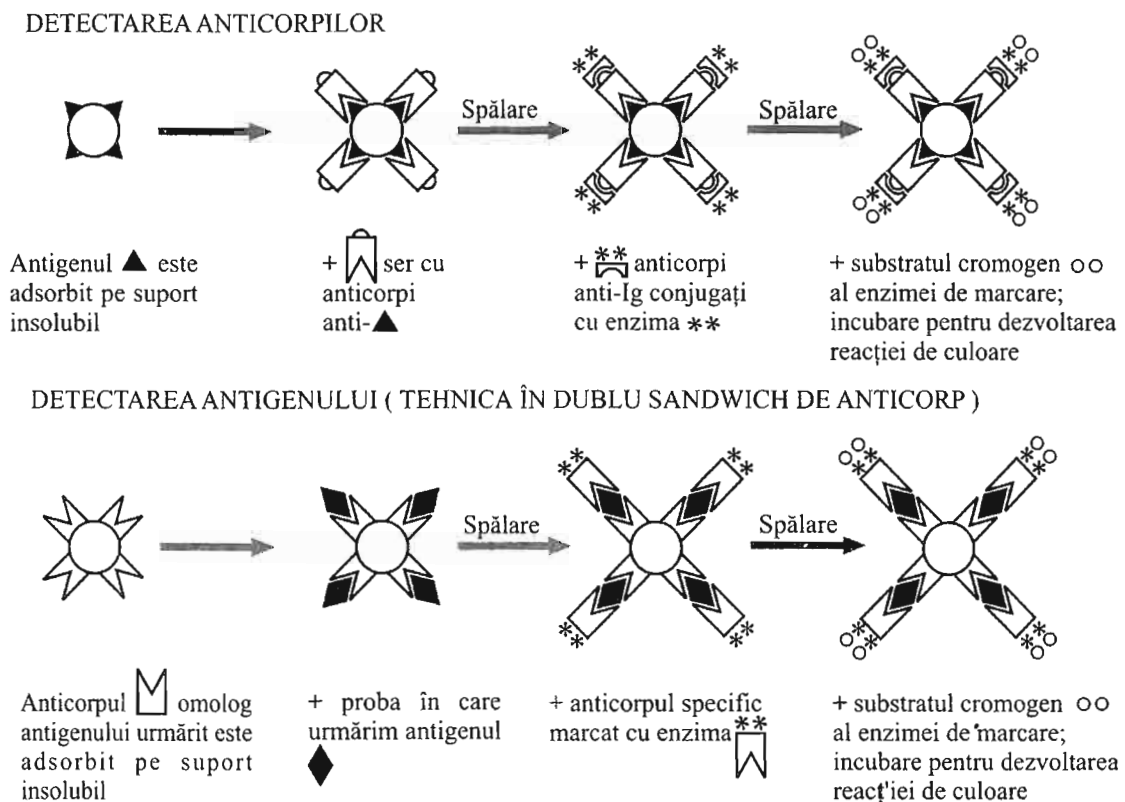


Fig. 39-7 Principiul ELISA

anticorpul. Variați anticorpi pot fi detectați prin ELISA (e.g., anticorpii heterofili sau specifici în mononucleoza infecțioasă, anticorpii anti-HIV).

Immunoblotting-ul este o EIA foarte specifică. Antigene diferite sunt fixate pe benzi din hârtie de nitroceluloză. Banda este incubată în proba de ser testată apoi, după spălare, este tratată cu anticorp antiimunoglobulină umană marcat enzimatic. După o nouă spălare este dezvoltată reacția colorimetrică. *Western blotting-ul* este util pentru confirmarea infecției cu HIV și pentru diagnosticul bolii Lyme.

CARMEN PÂNZARU

Hemocultura este însămânțarea și incubarea într-un mediu de cultură adecvat a unei probe de sânge, în scopul izolării și identificării bacteriilor pe care le conține. Sângele normal este steril, condiție menținută de sistemul circulator ce dispune de importante capacități de eliminare a microorganismelor. De aceea, bacteriemiile adulților evoluează cu număr redus de bacterii circulante (1-30 UFC/mL sânge), în timp ce la nou-născut, sugar și copilul mic numărul unităților formatoare de colonii depășește 100/mL. Există o relație de directă proporționalitate între forma, evoluția clinică a condiției bacteriemice și numărul de UFC/mL sânge.

Pentru practica hemoculturii reținem:

- Țintește antibioticoterapia sau o reorientează;
- Cel mai frecvent este o investigație urgentă; /
- Puncția și aspirația transcutană pe care le implică impun măsuri speciale de antisepsie și asepsie care ne ajută să diferențiem bacteria cu semnificație clinică de contaminanții epidermici;
- Necesitatea hemoculturilor repetate având în vedere prezența frecvent intermitentă a bacteriilor în sânge;
- Însămânțarea unor volume mai mari de sânge și prelungirea perioadei de incubare, justificate de concentrația redusă a bacteriilor în sânge;
- Necesitatea neutralizării prin diluție sau/și chimic a factorilor antimicrobieni din sânge;
- Necesitatea utilizării unor medii de cultură și a unor condiții de incubare care să asigure izolarea variatelor specii bacteriene ce pot fi implicate.

40.1. ETIOPATOGENIE

Bacteriemia și septicemia au fost definite anterior (☞ Subcapitolul 6.4.2.).

Spectrul etiologic al bacteriemiilor variază cu vârsta și reactivitatea imună a pacienților, cu condiția bacteriemică sau septicemică (tabelul 40-1).

-Vârsta pacienților: la nou-născuți și sugari predomină bacilii gram-negativi facultativ anaerobi.

* bgm facult. anaerob:
= *Enterobacteriaceae*: *E. coli*, *Klebsiella*

– Reactivitatea imună: la gazda imunocompromisă sunt implicate cele mai variate bacterii oportuniste inclusiv stafilococi coagulazo-negativi. (c.g.p.)

– Poarta de intrare sau focarul infecțios: stafilococi coagulazo-negativi sunt frecvent izolați în hemoculturile pacienților cu proteze valvulare cardiace sau cu inserții intravenoase; bacteriile anaerobe după intervenții pe colon; streptococi viridans, enterococi, grupul bacterian HACEK în endocarditele infecțioase. În chirurgia cardiacă bacteriemii/septicemii sunt frecvent cauzate de stafilococi coagulazo-negativi, bacili difterimorfi, levuri.

Indicațiile hemoculturii rezultă din etiopatogenia bacteriemii/septicemii:

– bacteriemii polietologice: infecții ale plăgilor și arsurilor, alveolite pulmonare, ITU înalte, meningite, peritonite;

– sindrom septicemic;

– endocardită infecțioasă;

– nou-născuți, sugari, gazde imunocompromise indiferent de vârstă, drogați pe cale intravenoasă;

– endocardită infecțioasă;

– infecție sistemică cu patogeni specifici;

– sindrom febril de origine neprecizată; (> 212 zile)

– stări febrile după cateterism venos prelungit, dializă peritoneală, intervenții chirurgicale pe intestin.

Tabelul 40-1 Specii bacteriene izolate frecvent și cu semnificație clinică din hemocultură

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Escherichia coli</i>	Anaerobi { <i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Fusobacterium</i> spp.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Peptostreptococcus</i> spp.
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Serratia</i> spp.	<i>Propionibacterium</i> spp.
<i>Proteus</i> spp.	<i>Veillonella</i> spp.
Streptococi α și β-hemolitici	<i>Salmonella enterica</i>
Pneumococi	Stafilococi coagulazo-negativi
Enterococi	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Haemophilus influenzae</i> tip b	<i>Leptospira</i>
Grupul bacterian HACEK	<i>Brucella</i>

40.2. PRELEVAREA HEMOCULTURII

Necesar:

– Medii de cultură repartizate în flacoane cu prevacuum, care permit utilizarea unui set de transfer (tub flexibil din polietilenă prevăzut cu ace la ambele capete), prin care sângele este înșămânțat direct în mediul de cultură, ceea ce reduce semnificativ riscul contaminării.

– Săpun lichid, alcool iodat 2% și eter.

– Tamponare sterile de tifon 5/5 cm.

Hemocultura în diagnosticul infecției

- Pense sterile.
- Garou.
- Bucată de mușama de 40/ 40 cm.
- Medii de cultură preîncălzite la 37°C.

Prelevarea hemoculturii este frecvent practică în urgență, de aceea aceste truse trebuie să fie în permanență la îndemână în serviciile interesate.

Medii de cultură. Având în vedere spectrul etiologic, pentru hemoculturi sunt indicate medii cu mare valoare nutritivă, respectiv bulion infuzie cord-creier, bulion tripticază din soia. Pentru bacteriile anaerobe utilizăm bulion Columbia cu cisteină (0,01-0,05%) sau bulion cu tioglicolat, iar pentru bacteriile cu perete defectiv, bulion hiperton cu sorbitol (6%) sau zaharoză (10%). Mediul conține polianetol sulfonat de sodiu („liquoid”) atât pentru efectul anticoagulant (în cheagul roșu de sânge pot fi mascate colonii bacteriene) cât și pentru neutralizarea complementului, fagocitelor, unor antibiotice (aminoglicozide, polimixine). Alte anticoagulante (EDTA, citrat, oxalat) sunt contraindicate datorită efectului inhibitor asupra bacteriilor, efect care la „liquoid” este restrâns numai la meningococi, gonococi.

La pacienții aflați sub antibioticoterapie efectul antibacterian poate fi neutralizat prin:

- adăugarea aseptică a penicilinazei (40 U/100mL mediu) în condițiile utilizării penicilinei
- utilizarea rășinilor anionice ce pot adsorbi 100μg de antibiotic, cu excepția moxalactamei și imipenemului.

Pentru izolarea mai precoce și cu risc minim de contaminare a microorganismelor cu creștere lentă putem folosi medii difazice: pantă de geloză-sânge ciocolat + tripticază soia sau pantă geloză-nutritivă + bulion infuzie cord creier.

Volumul și numărul prelevărilor de sânge pentru hemocultură sunt: la adult cca 20 mL per probă, în timp ce la nou-născuți, sugari sau copii mici este suficientă o cantitate de 1-3 mL deoarece concentrația bacteriilor în sânge este semnificativ mai mare.

Cum majoritatea bacteriemiilor sunt intermitente, o singură prelevare asigură izolarea bacteriei cu o sensibilitate de 80%, în timp ce trei prelevări intermitente în 24 de ore cresc această sensibilitate la 100%. În caz de urgență prelevările pot fi făcute la interval de 30-60 minute.

Momentul prelevării:

- Înaintea instituirii tratamentului antimicrobian, ceea ce presupune chiar în cazurile cu forme clinice severe temporizarea terapiei pentru 1,5-3 ore;
- Cât mai aproape de debutul bolii în afecțiunile ce evoluează sistematic cu fază bacteremică (febre enterice, alveolite pulmonare, leptospiroză, bruceloză);
- În bacteriemiile intermitente, descărcarea bacteremică este însoțită de frison și urmată de febră. Recoltăm hemocultura fie după evoluția predictivă a curbei febrile, fie și/sau în momentul apariției frisoanelor;
- În bacteriemiile continue (e.g., endocardita infecțioasă) prelevarea poate fi făcută oricând în cursul zilei.

Tehnica prelevării:

– Pacientul este plasat în decubit dorsal cu bucata de mușama sub cot, zona de puncție electivă fiind reprezentată de venele de la plica cotului la adult, venele jugulare la nou-născut și sugar; alternativ, pot fi puncționate venele dorsale ale mâinii sau antebrațului inferior. Cele 2 – 3 prelevări trebuie făcute din vene diferite;

– Decontaminăm mâinile prin spălare cu apă și săpun, urmată de uscare în aer cald sau cu prosop de unică utilizare;

– Aplicăm garoul la aprox. 10 cm deasupra zonei de puncționat, îl strângem pentru a putea aprecia prin palpare mărimea și elasticitatea venei (sunt contraindicate masajul și flagelarea antebrațului);

- Relaxăm garoul;
- Antiseptizăm degetele cu alcool iodat 2 %;

–Decontaminăm prin mișcări concentrice zona de puncție, întâi prin spălare cu apă și săpun lichid, apoi cu alcool iodat 2%; după 1 minut badionăm zona cu eter pentru a îndepărta iodul și a usca tegumentul. Dacă ignorăm etapa uscării tegumentului există riscul contaminării cu bacterii rezidente ale epidermei (stafilococi coagulazo-negativi, bacili difterimorfii, *Propionibacterium* spp.);

–Pregătim flacoanele cu mediile de cultură prin dezinfecția membranei de cauciuc;

–Ajutorul reaplică garoul;

–Fixăm tegumentul deasupra punctului de puncție prin tensionare pe braț cu degetele mâinii libere și, cu acul cu bizoul în sus poziționat în axul venei, în unghi de cca 30° cu tegumentul punționăm pielea și vena subjacentă printr-o mișcare moderat de bruscă. La pătrunderea acului în venă este uzual resimțită o cedare ușoară. Înaintăm pentru a plasa bizoul și o parte din ac în venă;

–Sângele trebuie să pătrundă liber în tubul setului de transfer. Când scurgerea este neregulată, rotim ușor acul pentru a repositiona bizoul în venă. Sângele nu mai curge când vârful perforază vena și pătrunde în țesut; în acest caz retragem acul puțin pentru a obține din nou sânge;

–Relaxăm garoul doar când sângele curge prin setul de transfer, pentru a împiedica astfel formarea unui hematom;

–Când sângele a înaintat suficient în tubul de legătură, perforăm membrana flaconului menținut sub nivelul punctului de puncție;

–După ce recoltăm cantitatea de sânge dorită, retragem acul din venă și presăm imediat locul de puncție cu un tampon steril, pacientul sau ajutorul continuând compresia până la hemostaza completă;

–Agităm blând flaconul pentru omogenizarea sângelui în masa mediului;

–Transportăm, în cel mai scurt timp, flacoanele fiecărei hemoculturi în laborator.

Dacă prima tentativă de prelevare eșuează, folosim pentru venipunctură alt set de transfer.

Când nu poate fi făcută hemocultura la patul bolnavului, folosim pentru prelevarea probei un tub cu 1 ml soluție 0,25–0,5% „liquoid” ca anticoagulant și expediem proba imediat în laborator pentru însămânțare.

40.3. INCUBAREA HEMOCULTURILOR ȘI URMĂRIREA LOR

În laborator un flacon este incubat aerob, iar celălalt anaerob. Incubarea în atmosferă de 5-10% CO₂ este obligatorie pentru izolarea brucelelor. Hemoculturile incubate la 37°C sunt urmărite timp de 7 zile, cu examinare macroscopică, microscopică și prin subcultivare. La pacienții cu endocardită infecțioasă, la cei aflați sub antibioticoterapie, pentru microorganismele cu exigențe particulare, prelungim perioada de incubare la 14 zile.

Examinăm macroscopic, de 2 ori/zi în primele 3 zile, apoi zilnic, cu aprecierea semnelor creșterii:

–Pe stratul de hematii examinat în lumina reflectată, prezența coloniilor sau a unui depozit floconos;

–Tulburare uniformă sau numai la suprafața mediului, peliculă uneori la examinarea supernatantului prin transparență;

–Hemoliza;

–Coagularea mediului;

–Prezența bulelor de gaz;

–Apariția de colonii pe stratul de geloză a mediilor difazice (CD 40-1).

Hemocultura în diagnosticul infecției

Meningococii, pneumococii, unele pseudomonade, unii anaerobi, *Haemophilus influenzae* pot cultiva în stratul de hematii fără a modifica supernatantul. În plus pneumococii se pot autoliza precoce. La incubarea prelungită, modificarea sângelui, prezența agarului în bulionul anaerob, a liquidului, pot oferi semne de falsă creștere.

Pentru detecția rapidă a multiplicării bacteriene în hemoculturi există sisteme semiautomate sau automate computerizate, în care evidențierea creșterii este realizată prin detecția cantității de CO₂ sau detecția electronică a turbidității bulionului. Fiecare sistem utilizează medii de cultură proprii.

Microscopia. Prin manipularea strict aseptică a flacoanelor efectuăm frotiuri pe care le colorăm Gram.

Subcultivarea. Dacă hemocultura este fără creștere evidentă: zilnic epuizăm câte o ansă pe o placă cu geloză-sânge ciocolatat ce va fi incubată în aerobioză și geloză-sânge pentru anaerobi. Dacă hemocultura rămâne negativă până la sfârșitul perioadei de observație, din hemocultura agitată însămânțăm câteva picături într-un tub cu bulion tioglicolat pe care îl urmărim 3 zile. Dacă hemocultura este cu creștere evidentă, funcție de flaconul în care este prezentă creșterea, etalăm câte o ansă pe mediile de cultură precizate mai sus. Efectuăm frotiu colorat Gram. Bacterioscopia precizează: oportunitatea testelor de identificare în cultură primară (e.g., diplococi sau streptococi: sensibilitatea la optochin, bacitracină; pentru stafilococi diferențierea *Staphylococcus aureus* de stafilococii coagulazo-negativi; bacili gram-negativi: oxidaza, triajul biochimic pe mediile TSI, MIU, citrat Simmons); efectuarea antibiogramei directe, nestandardizate, utilizând drept inocul hemocultura, care are bună reproductibilitate. Obligatoriu aceste rezultate trebuie confirmate și prin antibiograma subculturilor standardizată.

40.4. INTERPRETAREA ȘI COMUNICAREA ETAPIZATĂ A REZULTATELOR

În contextul creșterii incidenței bacteriemiei cu bacterii condiționat patogene din microbiota cutanată la pacienții imunocompromiși, semnificația clinică a izolării unei specii condiționat patogene (stafilococi coagulazo-negativi, *Propionibacterium* spp., pseudomonade altele decât *Pseudomonas aeruginosa* etc.) trebuie corect argumentată. Chiar în condițiile unei prelevări corecte a hemoculturii 5% din prelevate sunt contaminate cu bacterii din microbiota tegumentului, dar procentul crește în condițiile unei decontaminări dificile a tegumentului (sugari, pacienți cu dermatoze).

Argumentele bacteriologului:

– Are semnificație clinică izolarea aceleiași bacterii în mai multe flacoane ale unui set de hemocultură sau în hemoculturi repetate din sedii venoase diferite.

– Contaminarea este indicată de izolarea unor bacterii diferite din flacoanele hemoculturilor unui pacient.

– Pentru argumentarea semnificației clinice a accidental și condiționat patogenilor cea mai indicată este hemocultura cantitativă. Sângele este prelevat pe „liquid“, însămânțat în volum de 0,5 mL pe fiecare placă de geloză-sânge ciocolatat pentru incubare aerobă și geloză-sânge pentru anaerobi. Plăcile sunt urmărite timp de 7 zile. Au semnificație clinică cel puțin 10 colonii de stafilococi coagulazo-negativi, 3 colonii de bacili gram-negativi sau streptococi.

– Izolarea a ≥ 2 specii bacteriene din aceeași hemocultură cel puțin de 2 ori în 24 de ore argumentează bacteriemia polimicrobiană.

Argumentele clinicianului:

– Vârsta și statusul imun al pacientului;

– Particularitățile focarului septic primar.

Protezații valvulari sau cu inserții vasculare, gazdele imunocompromise pot prezenta

Examenul bacteriologic în bacteriemii particulare

bacteriemii cu stafilococi coagulazo-negativi, *Propionibacterium* spp. Copiii, pacienții cu infecții ale căilor urinare, infecții ale plăgilor și arsurilor, peritonite secundare fac mai frecvent bacteriemii polimicrobiene.

Comunicarea etapizată a rezultatelor. Comunicăm categoria microscopică imediat ce am observat-o (e.g., bacili gram-negativi în curs de identificare). Buletinul de analiză consemnează: categoria microscopică, identitatea probabilă, antibiograma nestandardizată, rezultatele finale după testările standardizate ale subculturilor pure.

Absența cultivării după perioada maximă de observație o consemnăm „Absența creșterii după 7 zile de incubare”.

Comunicăm toate izolatele. Clinicianul, în contextul clinic, va stabili semnificația lor. Bacteriologul argumentează probabilitatea contaminării.

40.5. EXAMENUL BACTERIOLOGIC ÎN BACTERIEMIILE PARTICULARE

Bacteriemii de cateter. Bacteriemia și inflamația locală definesc infecția de cateter apărută după cateterizări intravenoase prelungite. Cateterul are 2 inserții, una transcutană și alta intravenoasă, ce pot fi colonizate. Prezența a $> 10^4$ UFC/inserție intravenoasă definește infecția de cateter

Hemocultura în leptospiroză și bruceloză, practică pe medii convenabile celor 2 bacterii, o urmărim timp de aproximativ 1 lună.

Hemocultura în infecții sistemice cu micobacterii condiționat patogene o practicăm mai ales la pacienții cu SIDA folosind metoda lizei cu centrifugare. Sângele prelevat pe „liquoid”, polietilenglicol, saponină este lizat, iar microorganismele sunt concentrate prin centrifugare. Însămânțarea o realizăm pe mediul Löwenstein-Jensen, incubare la 37°C timp de 3 luni, cu urmărire săptămânală a creșterii pe froiuri colorate Ziehl-Neelsen.

La hemoculturi prin metoda lizei cu centrifugare recurgem și pentru **diagnosticul bartonelozelor** sistemice.

41

EXAMENUL LICHIDULUI CEFALORAHIDIAN ÎN DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR SISTEMULUI NERVOS CENTRAL

OLIVIA DORNEANU

1-3 celule nucleate/mm³ (Ly)
50-70 mg/dl - glucoză
15-40 mg/dl - proteine
680-730 mg/dl - Cl

„Fiziologia lichidului cefalorahidian a fost studiată de Magendie în 1825, apoi de Luschka 40 de ani mai târziu. Dar prelevarea sa in vivo n-a intrat în practica clinică decât începând cu 1891, dată la care Quincke a pus la punct tehnica puncției lombare în scopul de a trata meningitele purulente prin evacuare. Compoziția sa celulară și chimică în starea normală și patologică n-a fost cunoscută decât la începutul acestui secol, grație lucrărilor lui Widal, Sicard, Ravaut, Milian și Guillaing; inventarea, în 1911, a unei camere pentru micronumărare numită «celula lui Nageotte» a marcat în această privință un important progres practic.”

MAURICE BARIÉTY, CHARLES COURRY, 1963

41.1. GENERALITĂȚI

Examenul lichidului cefalorahidian (LCR) în infecțiile sistemului nervos central (SNC) este o urgență din cel puțin 2 motive: (1) mortalitatea mare și sechelele grave ce apar în lipsa tratamentului adecvat și precoce; (2) terapia antimicrobiană indicată și posibilă în cele mai multe dintre infecțiile grave de la acest nivel.

Lichidul cefalorahidian normal este un fluid steril, incolor și clar; conține cel mult 3 celule nucleate/mm³ (de regulă limfocite), 50-70 mg glucoză/dL, 15-40 mg proteine/dL și 680-730 mg cloruri/dL. La bolnavii cu meningite, infecții ale șunturilor pentru controlul hidrocefaliei, encefalite, poliomielite, putem urmări în LCR:

(i) Microbul infectant (după caz, bacterie, fung, protozoar, virus).

(ii) Antigene ale microbului infectant.

(iii) Consecințe ale metabolismului microbial și metaboliți microbieni: hipoglicorahie, hiperlactacidorahie, apariția alcoolului etilic, a acizilor grași volatili etc.

(iv) Modificări care reflectă inflamația: pleiocitoză cu o anume formulă leucocitară, hiperproteinorahie.

(v) Apariția unor anticorpi.

(vi) Modificări care reflectă perturbări hidroelectrolitice în circulația sistemică pe fondul hiperproteinorahiei: hipoclorurorahia.

41.2. CONSIDERAȚII ANATOMO-FIZIOLOGICE ȘI ETIOPATOGENETICE

Lichidul cefalorahidian apare ca secreție a plexurilor coroide din ventriculii cerebrali și prin difuziune liberă din țesutul nervos. Rolul fiziologic al LCR este de protecție biomecanică (amortizare și menținere a formelor anatomice proprii SNC, țesut cu consistență semifluidă) și biodinamică (eliminarea surplusului de lichid interstițial, menținerea homeostaziei mediului în care funcționează neuronii). Barierele hematomeningee și hematoencefalice reduc accesul agenților infecțioși, al metaboliților toxici, dar și al antibioticelor către LCR și țesutul nervos. Infecțiile SNC pot evolua ca:

(i) Meningite purulente cauzate cel mai frecvent de bacterii, ocazional de protozoare.

(ii) Meningite cu lichid clar și evoluție acută sunt determinate mai frecvent de virusuri

Considerații anatomo-fiziologice și etiopatogenice

(meningite aseptice), uneori de leptospire. Când evoluează cronic, este posibilă etiologia tuberculoasă, sifilitică sau fungică. Probleme dificile de diagnostic pun meningitele bacteriene „decapitate” prin tratament antimicrobian incomplet, care pot evolua cu lichid clar.

(iii) Encefalitele, inflamații ale creierului, sunt mai frecvent virale, dar pot să apară și prin mecanism infecto-alergic. Uzual li se asociază meningita.

(iv) Poliomielitele sunt inflamații ale țesutului nervos, care evoluează cu distrugerea selectivă a neuronilor motori. Cel mai frecvent sunt virale (virusul poliomielitei, enterovirus).

(v) Supurațiile (abcese cerebrale, subdurale sau epidurale) contraindică prelevarea LCR din cauza hipertensiunii intracraniene. Profilul modificărilor citologice și biochimice din LCR este nespecific.

Infectarea SNC se poate produce:

- Hematogen, în cursul unor bacteriemii (mai ales când se depășesc 10^4 UFC/mL sânge) sau viremii cu variate porți de intrare. La rândul său, meningele infectat devine focar bacteremic.

- Din nasofaringe, prin tecile limfatice olfactive (meningococ, pneumococ, *Haemophilus influenzae*).

- Prin contiguitate, din focare infecțioase juxtameningiene (e.g., otomastoidită, sinuzită).

- Din exterior (conduct auditiv extern, tegumente, nasofaringe) după fracturi craniene (meningite traumatice, cu cel mai variat spectru etiologic), puncții rahidiene sau intervenții chirurgicale pe nevrx (meningite iatrogene, eventual cu tulpini bacteriene de spital) și la pacienți cu anomalii congenitale (meningocel ș.a.).

De aceea, examenul microbiologic al sângelui și al prelevatelor de la variatele porți de intrare ale infecției sunt examene complementare în diagnosticul etiologic al infecțiilor meningoencefalice.

Meningitele bacteriene și fungice tratate antimicrobian precoce și corect se vindecă.

Dau o mortalitate mare dacă nu sunt tratate și lasă sechele grave dacă tratamentul este tardiv sau incorect. Meningitele virale sunt relativ frecvente. Deși de cele mai multe ori nu beneficiază de tratament antiviral, majoritatea lor evoluează benign.

În funcție de circumstanțele clinico-epidemiologice spectrul etiologic al meningitelor este larg și cu impact variat asupra deciziei terapeutice (tabelul 41-1).

41.3. PRELEVAREA ȘI TRANSPORTUL PROBELOR

Prelevarea probelor de LCR este de competență exclusivă a specialiștilor infecționiști, neurologi sau neurochirurghi. Se face prin rahicenteză, uzual lombară, sau puncție ventriculară în condiții strict aseptice. Cantitatea de 5-10 mL, fragmentată încă de la prelevare în 2 tuburi de centrifugă cu capac înșurubat (pentru a minimaliza riscul contaminării pe parcursul prelucrărilor ulterioare), satisface necesitățile pentru examele citologice, biochimice și microbiologice. Proba este transportată imediat și fără refrigerare, la laborator. Temporizarea examinării distruge celulele și, asociată refrigerării, omoară meningococii.

41.4. EXAMINAREA PROBELOR DE LCR

(1) **Examenul macroscopic.** Este apreciată:

- Transparența (LCR transparent, opalescent, tulbure, purulent);
- Culoarea: Meningitele cu LCR hemoragic sunt rare: e.g., meningoencefalita carbunoasă și, ocazional, meningita leptospirică; meningite cu lichid xantocrom etc.;
- Fluiditatea: Probele purulente sunt vâscoase. Unele pot coagula sau prezintă numai vâl de fibrină.

*g. th. x
Leptospira } LCR Hematologic*

cofax pneumococ
 m m
 1 4 luni → enterobacteriaceae, S. agalactiae, S. aureus, pneumococ

Examenul lichidului cefalorahidian în diagnosticul infecțiilor sistemului nervos central –

Tabelul 41-1 Spectrul etiologic al meningitelor funcție de sindroame și circumstanțele clinico-epidemiologice

Sindroame și circumstanțe	Microorganisme implicate ¹⁾	
Nou-născut și sugarul până la 2 luni		
• Meningite bacteriene m.m. / sugar 0-2 luni	Enterobacteriaceae (E. coli K ₁ mai ales) Streptococcus agalactiae Staphylococcus aureus Pneumococi	Haemophilus influenzae tip b • Bacilul piocianic Listeria monocytogenes*
• Meningite aseptice ²⁾	v. Citomegalic	v. Herpes simplex tip 2*
Copil		
• Meningite bacteriene	Neisseria meningitidis Alte neisserii** Pneumococi	Haemophilus influenzae tip b ³⁾ Mycobacterium tuberculosis ⁴⁾ Leptospira
• Meningite aseptice	v. Echo 4, 6, 9, 11, 16, 30 ⁵⁾ v. Coxsackie A7, 9; B 2-5 ⁵⁾ v. Urlian v. Rujeolic v. Gripal*	v. varicela-zoster* v. Epstein-Barr* v. Paragripal* adenovirus** arbovirusuri ⁶⁾
Adult		
• Meningite bacteriene	Pneumococi N. meningitidis Alte neisserii** S. aureus	L. monocytogenes ⁷⁾ Leptospira Cryptococcus neoformans ⁷⁾ Candida albicans ⁷⁾ Stafilococi coagulazo-negativi ⁸⁾ Streptococi viridans ⁸⁾
• Meningite aseptice	Bacili gram-negativi M. tuberculosis ^{4,7)} M. avium-intracellulare ⁷⁾ Arbovirusuri ⁶⁾ v. Gripal*	v. Herpes simplex tip 1*
Meningite otogene	Vezi tabelul 43-1	
Meningite traumatice	Variate bacterii	
Meningita înotătorilor, copii și tineri în sezonul estival	Naegleria fowleri Acanthamoeba-Hartmanella	

- 1) Mențiuni privind frecvența: Frecvente, lipsește asteriscul; Rare *; Foarte rare **.
- 2) LCR negativ bacterioscopic și cultura bacteriană negativă.
- 3) Rară după vârsta de 3-5 ani.
- 4) Frecvență în creștere.
- 5) Aproximativ 70% din cazuri, mai frecvent în sezonul estivo-autumnal.
- 6) Incidență variabilă cu zona de răspândire a vectorilor.
- 7) La gazde imunocompromise: meningoencefalita listeriană a alcoolicii, SIDA.
- 8) Meningite iatrogene.

(2) **Citologia cantitativă** o facem, după agitarea probei, în camera de numărat Nageotte sau Fuchs-Rosenthal (fig.41-1). Este esențială pentru probele de LCR clare, opalescente sau tulburi. Putem renunța la ea în cazul probelor purulente.

Numărul leucocitelor în LCR crește variabil în funcție de natura și stadiul evolutiv al meningitei: ~ 10⁴ celule nucleate/mm³ în meningitele acute bacteriene (aspect purulent), 50-1000/mm³ în meningitele virale (LCR clar sau opalescent), 50-500/mm³ în meningita tuberculoasă (LCR clar sau opalescent). În meningite acute bacteriene la debut sau în cele „decapitate” prin terapie antimicrobiană oarbă, numărul celulelor din LCR poate fi redus. La

~ 10⁷ celule mc/mm³ ⇒ LCR purulent → bact.
 50-1000/mm³ ⇒ LCR clar/opalescent → viral
 50-500/mm³ ⇒ - - - - - → TBC

probe cu vâl numărul celulelor trebuie considerat aproximativ și minimal, din cauza adsorbției celulelor pe vâlul de fibrină.

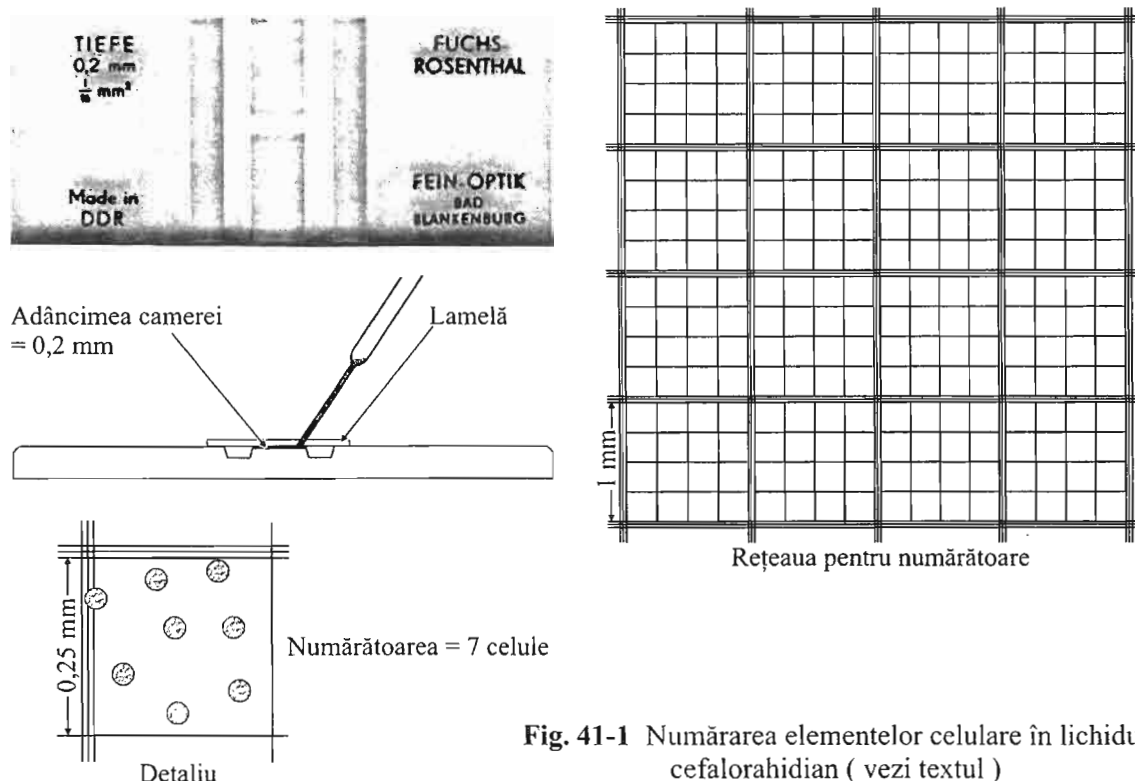


Fig. 41-1 Numărarea elementelor celulare în lichidul cefalorahidian (vezi textul)

(3) Citologia calitativă o facem pe frotiul din sediment colorat cu albastru de metilen sau Giemsa. Din probele purulente frotiul este indicat a fi făcut direct, fără centrifugare.

Reacția inflamatorie cu polimorfonucleare individualizează meningita bacteriană acută cu sensibilitate bună, dar specificitate redusă. O putem întâlni și în stadiul precoce al meningitelor virale, mai rar la unii pacienți cu meningită tuberculoasă. La nou-născuți și sugari, organisme cu reacție inflamatorie nematurizată, diagnosticul de meningită bacteriană acută este acceptat în prezența a ≥ 8 celule nucleate/mm³ sau a cel puțin 1 PMN/mm³.

Reacția inflamatorie limfocitară semnifică meningita virală sau tuberculoasă cu sensibilitate satisfăcătoare, dar cu specificitate redusă.

(4) Examenul biochimic al LCR. Este efectuat din supernatantul rezultat după centrifugarea probei. Sunt urmărite: glicorahia și metaboliți microbieni ai glucozei, proteinorahia și, în suspiciunea de meningită tuberculoasă, clorurorahia.

Circumstanțele clinico-epidemiologice, aspectul macroscopic, profilul citologic și biochimic al LCR (tabelul 41-2) orientează diagnosticul etiologic și investigațiile ulterioare.

(5) Bacterioscopia. Este cea mai accesibilă metodă rapidă pentru diagnosticul etiologic al meningitelor. Utilizăm frotiu efectuat din sedimentul LCR. În meningitele cronice cu bacili acidorezistenți (**baar**) sau în cele fungice, sensibilitatea depistării crește cu volumul de LCR supus centrifugării și prin examinare de probe repetate.

Examinarea (cu mărire de 1000X) a unui frotiu colorat Gram depistează bacteriile din LCR cu sensibilitate variabilă și specificitate satisfăcătoare. Bacterioscopia pe frotiuri colorate cu albastru de metilen este frecvent mai sensibilă decât cea pe frotiuri colorate Gram. Sensibilitatea depistării **baar** crește pe frotiuri efectuate în straturi suprapuse.

Pentru depistarea și identificarea microscopică a altor agenți infecțioși în LCR (*Cryptococcus neoformans*, leptospire, amibe) este utilizat preparatul umed între lamă și lamelă.

Examenul lichidului cefalorahidian în diagnosticul infecțiilor sistemului nervos central –

Tabelul 41-2 Profilul citologic și biochimic al LCR în meningite

Testul	Tipul de meningită			
	Bacteriană	Tuberculoasă	Virală	Fungică
Leucocite/mm ³	sute-mii ¹⁾	25-100	50-1000	100-500
Tipul predominant de leucocite	PMN segmentate	Mononucleare PMN tinere	Mononucleare	Mononucleare
Glucoza ²⁾	Foarte scăzută: 5-20 mg/dL	Scăzută: 20-40 mg/dL	Normală: 65-70 mg/dL ³⁾	Scăzută: 20-40 mg/dL
Acid lactic (în sonda de glicoză) Alcool etilic	Crescut: > 35 mg/dL	Crescut: > 35 mg/dL	Normal: 35 mg/dL	Prezent
Proteine	Mult crescute: 100-500 mg/dL	Crescute: 100-200 mg/dL	Ușor crescute: 15-100 mg/dL	Crescute: ~ 100 mg/dL

- 1) Uneori < 100, alteori > 60000; la nou-născut și sugar poate fi diagnosticată meningită bacteriană acută (chiar și cu cultură sterilă) dacă sunt prezente peste 8 leucocite sau peste 1 PMN/mm³ LCR.
- 2) Raportul glicorahie/glicemie < 0,31 are sensibilitate mai bună în meningitele bacteriene acute și evită rezultatele fals negative la pacienți cu diabet zaharat.
- 3) Poate fi redusă la cca ¼ din pacienții infectați cu virus herpes simplex sau urlian.

(6) Alte metode rapide pentru depistarea microorganismelor în LCR. Performanțele microscopiei ca metodă rapidă pentru diagnosticul etiologic al meningitelor pot fi ameliorate prin metode mai sensibile, imunologice sau non-imunologice. Trusele cu reactivi comercializați în prezent permit utilizarea contraimunelectroforezei, a latexaglutinării și coaglutinării pentru depistarea antigenică și a testului Limulus pentru depistarea endotoxinei. Cele mai indicate sunt latexaglutinarea și testul Limulus. Imunofluorescența directă poate fi utilizată pentru depistarea virusului herpes simplex.

(7) Cultivarea. În suspiciunea de meningită bacteriană sau fungică, investigația continuă cu izolarea microorganismului infectant, testarea sensibilității la antibiotice și identificarea sa.

Câte una-două picături din sedimentul LCR sunt însămânțate pe o placă cu geloză-sânge și una cu geloză-ciocolat, fără etalare. Câte un tub cu bulion tioglicolat cu 10% sânge de berbec este însămânțat cu LCR necentrifugat. Însămânțarea plăcii cu geloză-ciocolat nu este necesară când bacterioscopia a depistat bacterii gram-pozitive. Mediile sunt incubate la 37°C, în atmosferă cu 5% CO₂. Apariția culturii este urmărită zilnic: timp de 3 zile pe mediile solide și 5 zile în tubul cu bulion tioglicolat.

În suspiciunea de meningită tuberculoasă sunt însămânțate câte 2 tuburi cu mediu Löwenstein-Jensen. După 14 zile de incubare, apariția culturii este urmărită săptămânal, până la 8 săptămâni, întâi cu lupa, apoi cu ochiul liber.

În suspiciunea de meningită leptospirotică, tubul cu mediul Korthof însămânțat este incubat timp de 30 de zile la 37°C; la fiecare 5 zile este urmărită apariția culturii prin microscopie pe fond întunecat.

Pentru izolarea fungilor din LCR sunt însămânțate 2 pante cu geloză Sabouraud, incubate apoi la 25-30°C. Apariția culturii este urmărită zilnic în prima săptămână, apoi bisăptămânal până la 4 săptămâni.

Sensibilitatea globală a izolării virusurilor din LCR este modestă. Doar sensibilitatea izolării enterovirusurilor este apreciabil mai mare.

(8) Antibiotograma. Dacă microscopia directă atestă prezența unei densități bacteriene suficientă în proba de LCR (zeci de bacterii în medie/câmp microscopic, 1000X) se poate tenta antibiogramă pe cultură primară, ale cărei rezultate urmează a fi confirmate prin antibiogramă standardizată. Testarea cantitativă este de preferat celei difuzimetrice.

EXAMENUL MICROBIOLOGIC AL PUROIULUI 42

CARMEN PÂNZARU

Microorganismele sunt dovedite cauză a supurației unei plăgi prin:

„...găsirea microorganismelor parazite în toate cazurile cu boala în discuție, când putem demonstra mai departe că prezența lor într-un anumit număr și cu o anumită distribuție explică toate simptomele bolii și, în final, când am stabilit, pentru fiecare boală infecțioasă posttraumatică existența unui microorganism cu caractere morfologice bine definite.”

ROBERT KOCH

Gândită de Robert Koch, aplicată de Alexander Ogston, bacteriologia cantitativă a fost utilizată pe frontul de la Verdun în chirurgia de campanie a Primului Război Mondial, **apoi uitată și redescoperită după cinci decenii.**

Puroiul este un exsudat fibrinos, sanguinolent uneori, care conține leucocite (predominant polimorfonucleare neutrofile în inflamațiile acute și mononucleare în cele cronice specifice) și microorganismul implicat. Formarea puroiului o numim supurație. Supurațiile pot afecta orice țesut sau organ. Varietatea situsurilor anatomice implică numeroși agenți infecțioși și mecanisme patogenetice. Puroiul se poate acumula formând colecții ce se pot deschide spontan, prin una sau mai multe fistule, sau formează exsudate cutaneo-mucoase, frecvent contaminate de flora rezidentă de vecinătate.

42.1. ENTITĂȚI NOSOLOGICE ȘI ETIOPATOGENETICE

Schematic supurațiile de origine bacteriană pot fi clasificate în:

- Infecții superficiale (plăgi, arsuri, ulcere cutanate cronice, escare, supurații cutanate)
- Infecții profunde (abcese subcutanate sau viscerale, flegmoane, adenite)
- Infecții ale seroaselor, primitive sau secundare unui focar de vecinătate (pleurezii, peritonite, artrite septice, pericardite).

(1) Infecțiile arsurilor și plăgilor. Prin lezarea tegumentului țesutul denudat este contaminat cu bacterii din microbiota cutanată și vehiculate de corpi străini. Contaminarea cu specii gram-pozitive ale epidermei realizează o colonizare stimulantă inițial pentru procesul de granulare care este prima etapă a vindecării. Bacterii patogene ca *Streptococcus pyogenes* inițiază infecția chiar când contaminatează plaga în cantități minime. Concentrația critică a bacteriilor condiționat patogene care face posibilă trecerea de la colonizare la infecție este determinată de acumularea în țesut a enzimelor, citotoxinelor bacteriene. Progresiv se selectează tulpina cea mai virulentă sau asociații bacteriene sinergice (e.g., *E. coli-Bacteroides fragilis*), flora gram-pozitivă de contaminare inițială fiind înlocuită de *Staphylococcus aureus* sau de bacili gram-negativi. Concentrația bacteriană peste 10^5 UFC/g de țesut semnifică infecția; depășirea acesteia cu numai 2 $\log_{10}$ se însoțește de diseminare hematogenă.

Țesutul denudat are 2 zone distincte: (i) spațiul mort contaminat cu diverse microorganisme și format din țesut necrotic, hematoma, exsudat stagnant; (ii) țesutul viabil subjacent pe baza căruia are loc cicatrizarea și care răspunde prin inflamație la contaminarea, colonizarea, invazia bacteriană. Eradicarea spațiului mort este realizată numai prin intervenție

Examenul microbiologic al puroiului

chirurgicală, care trebuie practicăată cât mai precoce. În 5-17 ore bacteriile condiționat patogene realizează nivelul critic de 10^5 UFC/g de țesut.

Spectrul etiologic al supurațiilor cutanate este prezentat în tabelul 42-1.

(2) Infecții ganglionare, ale parenchimelor și seroaselor, supurații articulare

Apar ca urmare a propagării pe cale limfatică sau hematogenă a infecției din focare cutanate sau mucoase. Spectrul lor etiologic poate fi urmărit în tabelul 42-1.

Tabelul 42-1 Spectrul etiologic al supurațiilor funcție de câteva circumstanțe clinico-epidemiologice

Circumstanța clinico-epidemiologică	Microorganisme implicate	
<u>Plăgi traumatice</u>	<i>Staphylococcus aureus</i> ✓ <i>Escherichia coli</i> ✓ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ✓ <i>Klebsiella</i> – <i>Enterobacter</i> ✓ <i>Bacteroides</i> spp.	<i>S. epidermidis</i> ✓ Streptococi piogeni ✓ <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Proteus</i> – <i>Providencia</i> Bacili antracoizi (mai frecvent <i>B. cereus</i>)
• de război	Clostridii invazive și speciile menționate mai sus	
• contaminate cu pământ	Clostridii invazive ✓	<i>Nocardia asteroides</i> <i>N. brasiliensis</i>
• contaminate în apă	<i>Vibrio cholerae</i> NAG ✓ <i>Vibrio</i> spp. ✓ <i>Aeromonas</i> spp. mezofile	<i>Mycobacterium marinum</i> <i>M. chelonae</i> <i>Legionella</i> spp. ✓
• mușcate de animale	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Pasteurella</i> spp. <i>Weeksella zoohelcum</i>	<i>Spirillum minus</i> <i>Streptobacillus moniliformis</i>
• mușcate de om	Infecții mixte cu bacterii anaerobe și aerobe ale cavității orale	
• chirurgicale	<i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i> alte pseudomonade	<i>Klebsiella</i> spp. <i>Legionella</i> spp.
<u>Arsuri</u>	stafilococi <i>P. aeruginosa</i> alte pseudomonade	<i>Enterobacter</i> spp. ✓ alți bacili coliformi <i>Enterococcus</i> spp. <i>Candida</i> spp.
<u>Ulcere cutanate cronice</u>	Streptococi piogeni <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>S. aureus</i>	<i>Nocardia</i> spp. <i>Mycobacterium</i> spp. Treponeme ✓
<u>Adenite supurate</u>	Streptococi piogeni <i>S. aureus</i>	bacili coliformi <i>Mycobacterium</i> spp.
<u>Empieme</u>		
• copii/tineri	<i>S. aureus</i> Pneumococi <i>H. influenzae</i>	<i>S. pyogenes</i> Bacterii anaerobe <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
• adulți	Bacterii anaerobe Pneumococi <i>S. aureus</i>	Bacili gram negativi aerobi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<u>Abcese subdiafragmatice</u>	Infecții mixte cu: bacterii anaerobe (inclusiv <i>Bacteroides fragilis</i>) + bacili gram negativi aerobi	
<u>Peritonite</u>	<i>Enterobacteriaceae</i> + bacterii anaerobe	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<u>Abcese viscerale</u>	Sunt monobacteriene generate de bacteriemii și septicemii	
<u>Artrite septic</u>		
<u>Osteomielite</u>		

42.2. PRELEVAREA ȘI TRANSPORTUL PROBELOR DE PUROI

Puroiul este un prelevat unic și irepetabil ce trebuie expediat imediat la laborator, maxim în 1-2 ore. Prelevăm prin puncție-aspirație, chiuretaj sau biopsie, pe tampon din colecții foarte mici când celelalte modalități sunt imposibile. Pentru anaerobi, în lipsa containerelor speciale, recoltăm puroiul prin puncție cu seringă aplicând metoda „seringa anaerobă” ce le asigură supraviețuirea timp de 30 minute (☞ Subcapitolul 39.3.1.).

42.2.1. Prelevarea puroiului din supurațiile superficiale. Este indicată utilizarea unei pipete sau a acului unei seringi, dar frecvent utilizăm tamponul, deși tehnica este mai puțin precisă (recoltează și bacterii contaminante) și fiabilă (desicarea rapidă a prelevatului influențează supraviețuirea unor bacterii fragile). Când conduita terapeutică impune cunoașterea concentrației bacteriene în țesuturile viabile, utilizăm prelevări biopsice, iar pentru monitorizarea pacienților arși, prelevarea bisăptămânală cantitativă cu tamponul pentru simplitatea recoltării și disconfortul redus al pacientului. Pe o zonă a plăgii lipsită de țesut necrotic și spălată cu soluție salină izotonă pentru îndepărtarea exsudatului stagnant sau eventual a agenților topici antimicrobieni, învârtim timp de 5 secunde vârful tamponului umectat cu soluție Ringer, pe o arie de 1 cm², ferm, până la o sângerare ușoară. Introducem tamponul în bulion tioglicolat și îl transportăm imediat la laborator. Pentru un eșantionaj corect prelevăm din mai multe puncte ale suprafeței lezate.

42.2.2. Prelevarea din colecții purulente. Din zonele accesibile puncției (abcese superficiale, cavități seroase) aspirăm puroiul cu un ac suficient de gros (pentru a evita puncția oarbă dacă puroiul este vâscos) adaptat unei seringi etanșe.

Utilizarea unui mediu de transport, a containerelor anaerobe permite supraviețuirea bacteriilor fragile (sau strict anaerobe) timp de câteva ore.

42.3. EXAMENUL DE LABORATOR AL PUROIULUI

42.3.1. Examenul macroscopic este posibil numai pentru puroiul prelevat în seringă sau recipiente. Urmărim:

- Consistența – cremos sugestiv pentru infecții stafilococice, lichid pentru cele streptococice, cazeos în infecția tuberculoasă;
- Culoarea variază de la galben la roșu-brun (prezența sângelui sau hemoglobinei). În infecțiile cu bacil piocianic este albastru-verzui, în cele cu pneumococ verzui;
- Mirosul – fetid, fecaloid sugerează supurație cauzată de bacterii anaerobe sau o infecție mixtă cu bacterii facultativ anaerobe.

42.3.2. Microscopia. Efectuarea frotiului diferă cu tipul probei:

- Probele de puroi uzuale: efectuăm cu ansa un frotiu subțire și uniform pe care îl colorăm Gram sau/și Ziehl-Neelsen.
- Probele prelevate pe tampon: temporizarea efectuării frotiului denaturează rezultatul. Pe o lamă de microscop sterilizată prin flambare și răcită, rulăm extemporaneu, ușor, tamponul pentru a obține un frotiu subțire și uniform în centrul lamei.

Examinarea frotiului colorat Gram. (i) Citologia. Urmărim și înregistrăm: leucocitele care apar drept „celule inflamatorii rotunde”, dar pe frotiurile bine colorate distingem granulocite, limfocite, macrofage. (ii) Bacterioscopia. Apreciază semicantitativ (foarte rari – 1/50-100 câmpuri microscopice, rari – 1/10-20 câmpuri, numeroși 1-10 per câmp) categoria

Examenul microbiologic al puroiului

microscopică a bacteriilor observate.

Examenul frotiurilor colorate Ziehl-Neelsen este indicat la cererea clinicianului sau când bacterioscopia frotiurilor colorate Gram din exsudatele purulente pleurale, articulare, ganglionare rămâne negativă.

42.3.3. Cultivarea probelor. Contextul clinico-epidemiologic și rezultatele examenului microscopic motivează alegerea mediilor de cultură.

(i) *Izolări calitative* din puroi și probe biopsice. Pentru bacteriile aerobe și facultativ anaerobe cu creștere rapidă bacteria minimală include câte o placă cu geloză-sânge, mediu cu selectivitate joasă pentru bacili gram-negativi, geloză-sânge selectivă pentru cocii gram-pozitivi. Numai în cazul probelor necontaminate folosim și un tub cu bulion tioglicolat îmbogățit cu vitamina K, hemină. Probele de puroi articular le însămânțăm pe geloză-sânge ciocolatat (pentru hemofili) sau Thayer-Martin (gonococi, meningococi).

Incubăm culturile la 37°C în atmosferă cu 5-10% CO₂ timp de 24-48 de ore. Pentru urmărirea neisseriilor sau a culturii în bulion prelungim incubarea până la 5 zile.

Bacteriile anaerobe le izolăm pe geloză-sânge pentru anaerobi. Bulionul tioglicolat îmbogățit îl utilizăm numai pentru probele necontaminate. Incubăm culturile la 37°C în anaerobioză până la 7 zile.

Izolarea bacililor acido-rezistenți (Capitolul 19).

(ii) *Izolarea cantitativă* din plăgi și arsuri a prelevatului pe tampon. Obținem suspensia mamă prin rotirea și stoarcerea insistentă a tamponului în mediul de transport pentru descărcarea conținutului, apoi îl stoarcem prin presare insistentă pe peretele tubului. Realizăm diluții decimale în bulion tioglicolat și etalăm câte 0,1 mL din fiecare diluție pe o placă cu geloză-sânge pentru incubare aerobă și una cu geloză-sânge suplimentat pentru anaerobi. Incubăm plăcile la 37°C cu citiri la 24, 48 de ore a plăcii aerobe și la 48-72 de ore a celei anaerobe. Calculăm concentrația bacteriilor pe tampon după formula:

Numărul UFC/ tampon = $N \times D \times 10$, unde

N—numărul coloniilor pe placă; D—inversul diluției; 10 pentru că am însămânțat 0,1 mL.

42.3.4. Interpretarea rezultatelor

Supurațiile superficiale. Izolatul obținut poate avea semnificație clinică sau poate fi contaminant. Pentru semnificația clinică pledează: corelația cu microscopia și contextul clinic al izolatului predominant, cât și izolarea repetată a unei bacterii condiționat patogene (*Staphylococcus epidermidis*, micobacterii atipice) în prelevate succesive.

Supurațiile profunde și închise. Frecvent sunt monobacteriene și nu pun probleme de interpretare. Uneori pot fi plurimicrobiene: peritonite, pleurezii în care intervin bacteriile anaerobe nesporulate.

Izolarea cantitativă din plăgi și arsuri. Izolatele în cantitate de $\geq 10^5$ UFC/tampon au semnificație clinică. Streptococii β -hemolitici au semnificație clinică indiferent de cantitatea în care sunt izolați. Izolatele în cantități de 10^{3-4} UFC/g țesut au semnificație clinică dacă examenul histopatologic confirmă prezența infiltratului inflamator, a leziunilor de vasculită și tromboză.

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL INFECȚIILOR TRACTUSULUI RESPIRATOR SUPERIOR

43

CARMEN PÂNZARU

„Treizeci și patru procente din pacienți fac febră reumatică în ciuda faptului că au fost văzuți de un medic pentru o infecție respiratorie anterioară; cei mai mulți din acești pacienți nu au beneficiat de o cultură faringiană.”

M. MARKOWITZ, 1970

„În 1968, la grupa de vârstă 15-24 ani, boala cardiacă reumatică era principala cauză de moarte în șase țări...50% din aceia care au depășit faza acută mor în următorii 20 ani.”

T. STARSSER, J. ROTTA, 1973

„La un bolnav cu faringită acută trebuie să știm dacă cultura este pozitivă pentru streptococ β -hemolitic; dacă nu, munca și cheltuielile cu antibioticele pot fi evitate.”

H.H. STOLLERMAN, 1970

Ați studiat anterior condiția microbiologică normală a tractusului respirator superior cu cavitățile conecte (☞ Subcapitolul 6.2.) și factorii care o controlează (☞ Subcapitolul 6.3.2.).

43.1. ENTITĂȚI NOSOLOGICE ȘI ETIOPATOGENETICE (tabelul 43-1)

Manifestările clinice ale infecțiilor tractusului respirator superior sunt: faringite, pentru care folosim termenul de angină când sunt interesate amigdalele palatine; naso-faringite; rinite; sinuzite; otite medii; laringite și epiglotite.

Continuitatea între segmentele căilor respiratorii superioare are două consecințe: (i) propagarea infecției prin continuitate cu întrepătrunderea simptomatologiei clinice (naso-faringite-angine) și (ii) complicațiile ce apar prin afectarea sinusurilor, urechii medii, laringelui, căilor respiratorii inferioare. Este posibilă propagarea limfatică, frecvent în infecțiile bacteriene (limfadenita cervicală streptococică), mai rar în cele virale (mononucleoza infecțioasă, adenoviroze); cât și propagarea meningeală prin tecile limfatice ale nervului olfactiv (meningococ). Faringitele cu streptococi grup A, C se pot complica cu boli post-streptococice.

Patogenii primari care infectează tractusul respirator superior sunt: • Virusurile (cel mai frecvent). Aceste viroze se vindecă spontan, dar favorizează suprainfecția cu bacterii din microbiota indigenă prin lezarea epiteliului respirator. • Bacteriile (*Streptococcus pyogenes*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Haemophilus influenzae* serotip b) determină boli uneori grave, care beneficiază de tratament antibacterian. Importanța diagnosticului de laborator este motivată de predicția mediocră a simptomatologiei pentru etiologia bacteriană.

43.2. PRELEVAREA PROBELOR

43.2.1. Exsudatul faringian

Necesar: tampon steril, apăsător limbă, sursă de lumină, mască.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor respiratorii superioare

Tehnica: Exsudatul faringian este prelevat înainte sau după 3 ore de la ingestia de alimente ori toaleta gurii. Așezăm pacientul pe scaun cu fața către sursa de lumină, ceafa sprijinită și gâtul în extensie. Stăpânim limba cu apăsătorul steril și în momentul în care pronunță vocala A ștergem viguros, dar nu brutal, peretele posterior al faringelui și amigdalele. Urmărim cu atenție prezența zonelor cu ulceratii, depozite purulente, a falselor membrane pentru a recolta de la acest nivel. **Atenție!** La introducerea și la extragerea tamponului nu trebuie atinsă baza limbii sau palatul moale. După recoltă reintroducem tamponul în tubul protector etichetat. Prelevarea declanșează reflex de tuse, de aceea este indicată protecția celui care face recolta cu mască de tifon.

Indicații: diagnosticul faringitelor streptococice, confirmarea suspiciunii de difterie, diagnosticul altor angine bacteriene, depistarea portajului de *S. pyogenes*, *C. diphtheriae*.

43.2.2. Exsudatul nasal și nasofaringian

43.2.2.1. Tamponul nasal. *Tehnica:* ștergem pe rând vestibulul foselor nasale cu tamponul umezit cu soluție salină izotonă. Prelevările nasale pentru izolare de virus presupun descărcarea imediat după prelevare prin agitare insistentă în mediul de transport, refrigerarea probelor la 4°C până la 24 ore, maxim 96 ore pentru transport la laboratorul de referință, congelare la -70°C dacă se prelungește timpul până la inoculare.

Indicații: diagnosticul unor viroze respiratorii; depistarea portajului de *Staphylococcus aureus* sau *Streptococcus pyogenes*.

43.2.2.2. Exsudatul nasofaringian este prelevat pe tampon per-nasal. *Tehnica:* așezăm pacientul pe scaun cu fața către sursa de lumină, immobilizăm capul, introducem tamponul blând în lungul planșeului nasal până la atingerea peretelui posterior al nasofaringelui. Îl rotim ușor încărcându-l cu exsudat și-l retragem. La copilul mic dacă vrem să evidențiem patogeni prezenți în căile respiratorii inferioare, provocăm acces de tuse prin prelevarea unui tampon faringian, astfel exsudatul proiectat din căile inferioare respiratorii ajunge în nasofaringe și poate fi prelevat pe tampon sau prin aspirație nasofaringiană.

Indicații: diagnosticul tusei convulsive, infecțiilor cu *Mycoplasma pneumoniae* și chlamidii; diagnosticul virozelor respiratorii; depistarea portajului de *S. pyogenes*; depistarea portajului de bacil difteric, meningococ, *Bordetella pertussis*, bacterii frecvent prezente în nasofaringe.

43.2.3. Prelevarea puroiului sinusal și otic

Cele mai mari șanse de diagnostic corect le oferă puroiul sinusal aspirat prin puncția aseptică a sinusurilor afectate. Prelevarea exsudatului nasofaringian din vecinătatea orificiilor sinusale nu are valoare diagnostică din cauza contaminării cu microbiota indigenă.

În otitele medii prelevatul de elecție este puroiul de pe lanțeta de timpanocenteză sau aspiratul otic după timpanocenteză.

43.3. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL FARINGITELOR STREPTOCOCICE

Uzual examenul tamponului faringian vizează evidențierea streptococilor beta-hemolitici. Dacă este suspicionată altă etiologie, aceasta trebuie menționată în cererea de analiză deoarece impune utilizarea unor medii de cultură suplimentare.

Transportul și conservarea probelor. Tamponul faringian trebuie prelucrat în maxim 3 ore de la prelevare, altfel se impune fie transportul pe mediu de conservare-

Tabelul 43-1 Spectrul etiopatogenic al infecțiilor tractusului respirator superior și cavităților conecte în funcție de sindroame și circumstanțe clinico-epidemiologice

Sindroame și circumstanțe	Microorganisme implicate	
	Frecvent	Rar
Faringite/ tonsilite/ angine		
<i>Angine roșii (eritematoase)</i>		
• Primare	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i>	Streptococi grup C, G Meningococi, gonococi <i>H. influenzae</i> tip b ¹⁾ <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> <i>M. hominis</i>
• Asociate virozelor respiratorii și unor viroze sistemice cu poartă de intrare respiratorie	Adenovirus Rhinovirus, Coronavirus, v. Cocksackie, v. ECHO, v. paragripal ²⁾ v. gripal A, B, C	v. Epstein-Barr, v. citomegalic v. urlian v. rujeolic ³⁾ , v. rubeolic
<i>Angine albe</i>		
• Eritematopultacee	<i>S. pyogenes</i>	Streptococi grup C, G
• Pseudomembranoase		<i>Corynebacterium diphtheriae</i> <i>Candida albicans</i> v. Epstein-Barr
<i>Angine ulcerose</i>		
• Veziculare, ulcerate	v. Cocksackie, v. herpetic, v. varicela	
• Ulceronecrotice	<i>S. pyogenes</i>	Infecție mixtă cu anaerobi ⁴⁾
• Ulceromembranoase		Asociație fuso-spirochetoică
<i>Flegmon amigdalian</i> ⁵⁾	<i>S. pyogenes</i>	
<i>Angina Ludwig</i> : celulita difuză a planșeului bucal ⁵⁾	<i>S. pyogenes</i>	
<i>Sinuzite</i>		
• Acute – complică frecvent virozele respiratorii și infecțiile cu <i>M. pneumoniae</i> , polipii nazali, deviațiile de sept, rinitele alergice	<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> <i>H. influenzae</i> nontipabil Rhinovirus, v. gripale și paragripale singure sau cu suprainfecție bacteriană	<i>Neisseria</i> spp., <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , streptococi α -hemolitici
• Odontogene	Asociație de bacterii anaerobe	
• Fibroză chistică	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
• Nosocomiale		Obişnuit infecție mixtă: <i>P. aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Proteus mirabilis</i> ș.a.
<i>Otite medii</i>		
• Acute – complică virozele respiratorii și infecțiile cu <i>M. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i> nontipabil, <i>S. pneumoniae</i> , <i>M. catarrhalis</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> ⁷⁾	<i>S. pyogenes</i> , Streptococi grup B ⁶⁾ , bacterii anaerobe, stafilococi
• Cronice cu perforații de timpan	Frecvent infecție mixtă <i>Enterobacteriaceae</i>	
<i>Laringite</i>		
• Acute	Virusuri respiratorii, <i>M. catarrhalis</i>	<i>H. influenzae</i> tip b în epiglotitele copilului <i>S. pyogenes</i> <i>M. tuberculosis</i>
• Cronice		

1) La copii sub vârsta de 5 ani. 2) La copilul mic evoluează cu laringită și crup. 3) În condițiile vaccinării antirujeolice generalizate. 4) La gazdele imunocompromise (hemopatii maligne etc.). 5) Infecții bacteriemice. 6) La nou-născuți. 7) Mai frecvent la sugari.

îmbogățire (bulion Todd-Hewitt), fie transportul probei uscate pe dreptunghi de hârtie de filtru.

Metode rapide. Există truse pentru detectarea *S. pyogenes* direct în tamponul faringian prin latexaglutinare (cea mai utilizată), coaglutinare sau ELISA, cu o sensibilitate de 0,80-0,95 și specificitate 0,98. Depistarea antigenică înlocuiește cultura doar când rezultatul este pozitiv. Dacă rezultatul este negativ cultura rămâne necesară pentru că pot fi implicați streptococi de grup C, G.

Cultivarea. *Medii de cultivare:* geloza cu infuzie de cord sau tripticază-soia cu 5% sânge de berbec repartizată în plăci. Folosim sângele de berbec deoarece hematiile conțin NAD-ază, enzimă ce distruge factorul V și inhibă cultivarea speciilor de *Haemophilus* ale căror colonii pot fi confundate cu streptococii β -hemolitici. În plus, lipsește și caracterul β -hemolitic al *Enterococcus faecalis* var. *zymogenes*. Mediile selective: geloza-sânge cu cristal violet 1 μ g/mL inhibă stafilococii; geloza-sânge cu 3,5% clorură de sodiu favorizează izolarea streptococilor β -hemolitici implicați în faringită (grup A, B, C, G) prin inhibarea bacteriilor contaminante, mai ales a streptococilor orali, inclusiv streptococi β -hemolitici din grupul *S. milleri*.

Însămânțare: descărcăm tamponul rulându-l pe toate fețele și apoi epuizăm inoculul cu ansa în celelalte 3 cadrane. Întepăm sau secționăm scurt mediul la sfârșitul fiecărui cadran pentru a crea condiții microaerofile care protejează streptolizina O și depistează tulpinile neproducătoare de streptolizina S.

Incubare: aerob 24 ore la 37°C cu prelungire până la 48 ore dacă este necesar.

Citirea culturilor. Examinăm plăcile cu lupa în lumina reflectată și prin transparență, urmărind coloniile mici cu diametru de 0,5-1 mm înconjurate de o zonă largă de hemoliză completă (CD 9-1). Dacă este o tulpină producătoare exclusiv de streptolizina O constatăm β -hemoliza numai în zonele de întepare sau secționare a mediului.

Identificarea. Frotiul colorat Gram verifică dacă am izolat streptococi (CD 9-3). Testul de sensibilitate la bacitracină și cotrimoxazol diferențiază prezumtiv streptococii de grup A de cei non-grup A (CD 9-7,8). Identificarea biochimică este necesară pentru unii streptococi non-grup A.

Antibiograma. *Streptococcus pyogenes* și-a păstrat nemodificată marea sensibilitate la penicilină. La alte antibiotice a dobândit rezistență în proporții variate, de exemplu la eritromicină, alternativa terapeutică în cazul pacienților cu streptococie și sensibilizare la penicilină. Antibiograma poate fi făcută doar pentru supravegherea epidemiologică a rezistenței la macrolide, iar rezultatele sunt comunicate numai la cerere.

Comunicarea rezultatului se poate prezenta astfel: • prezent streptococ β -hemolitic grup A sau nongrup A; • absent streptococ β -hemolitic.

43.4. CONFIRMAREA BACTERIOLOGICĂ A ANGINEI DIFTERICE

Diagnosticul de difterie este o urgență. Examenul bacteriologic confirmă sau infirmă diagnosticul clinic când decizia terapeutică a fost deja luată.

Prelevăm 3 tampoane faringiene de la limita falsei membrane (insistând până la ușoară sângerare) și un tampon nasofaringian.

Microscopia directă. Extemporaneu, din primul tampon faringian efectuăm un frotiu pe care îl fixăm prin căldură și-l ducem imediat în laborator împreună cu celelalte tampoane. Frotiul îl colorăm Gram sau cu albastru de metilen alcalin Loeffler și urmărim prezența bacililor corineformi cu granule metacromatice polare. Absența lor nu exclude diagnosticul de difterie.

Confirmarea bacteriologică a anginei difterice

Cultivarea. Al 2-lea tampon faringian îl însămânțăm pe o placă cu mediu Tinsdale (selectiv prin conținutul în telurit de potasiu) și pe o placă cu geloză-sânge. Al 3-lea tampon faringian îl epuizăm pe mediul Loeffler și apoi îl descărcăm într-un tub cu mediu de îmbogățire O.S.T. Tamponul nasofaringian este descărcat tot în mediul de îmbogățire O.S.T.

Incubăm culturile aerob la 37°C peste noapte.

Examinarea culturilor. Mediul Loeffler, deși neselectiv, favorizează cultivarea bacilului difteric cu morfologia caracteristică; bacteriile de asociație cultivă mai tardiv. Din coloniile prezente pe acest mediu executăm frotiu pe care urmărim prezența bacililor corineformi cu granule metacromatice caracteristice (CD 16-1).

Cultura pe geloză-sânge ne oferă următoarele date: • Prelevarea a fost sau nu corectă (dacă lipsește cultura pe geloză-sânge prelevatul este necorespunzător); • Uneori angina streptococică poate evolua cu false membrane, mimând difteria, sau în unele cazuri grave de difterie *S. pyogenes* se asociază bacilului difteric.

Pe mediul Tinsdale urmărim prezența coloniilor caracteristice negre cu halou brun (CD 16-2,3). Dacă aceste colonii sunt absente, reîncubăm și reexaminăm placa după alte 24 ore. Dacă sunt prezente, executăm un frotiu pe care-l colorăm Gram (stafilococul poate forma colonii asemănătoare) și repicăm pe mediul Loeffler pentru a obține cultura pură în scopul identificării. Când primocultura pe mediul Tinsdale rămâne negativă, avem la dispoziție și examinăm subcultura din mediul de îmbogățire O.S.T.

Identificarea impune: • Examen microscopic al frotiurilor colorate Gram și cu albastru de metilen policrom pentru a verifica morfologia și puritatea culturii; • Teste de identificare biochimică; • Depistarea toxigenezei prin testul Elek sau, în laboratoarele de referință, prin testare *in vivo*, finalizează diagnosticul. Tulpinile nontoxigene nu au semnificație clinică.

43.5. DIAGNOSTICUL ALTOR ANGINE BACTERIENE

(1) **Faringita acută determinată de *Arcanobacterium haemolyticum*.** Utilizăm mediul selectiv geloză-sânge de berbec suplimentată cu NaCl până la 3,5g% pentru însămânțarea tamponului faringian. Incubăm 48 ore cu o primă citire la 24 ore. Urmărim prezența coloniilor mici, rotunde, cu β -hemoliză discretă, pe care le identificăm prezumtiv pe baza caracterelor morfotinctoriale (bacili gram-pozitivi, ocazional așezați în V, lipsiți de granule metacromatice) și testului catalazei negativ. Fiind o specie comensală orofaringiană, semnificația clinică a izolării este legată de creșterea predominantă și în cantitate mare pe placa de izolare.

(2) **Faringita gonococică.** Tamponul faringian îl epuizăm extemporaneu fie pe o placă cu mediu Thayer-Martin selectiv prin adaos de vancomicină, colimicină, nistatină, fie pe o placă cu geloză Mueller-Hinton îmbogățită cu supliment HYL și selectivă prin colimicină, lincomicină. Incubăm imediat la 37°C în atmosferă cu 5% CO₂. Coloniile oxidazo-pozitive ce cultivă pe aceste medii vor fi controlate microscopic înainte de a fi introduse în algoritmul de identificare deoarece în exsudatul faringian pot fi și bacili gram-negativi oxidazo-pozitivi.

(3) **Angina și stomatita Vincent.** Diagnosticul este microscopic deoarece sunt specii anaerobe dificil de cultivat: prezența reacției inflamatorii și a foarte numeroși bacili fusiformi gram-negativi și spirochete pe frotiul colorat Gram (CD 18-4). Însămânțăm tampon faringian pe geloză-sânge pentru a exclude infecția cu *S. pyogenes*.

43.6. DEPISTAREA PURTĂTORILOR SĂNĂTOȘI

Depistarea purtătorilor sănătoși de bacterii patogene o facem în scop epidemiologic, pentru a stabili sursa de infecție și pentru carantinarea purtătorilor față de colectivitățile cu risc.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor respiratorii superioare

(1) **Depistarea portajului nasal de *S. aureus*** este solicitată în focarele demonstrate de stafilococii nosocomiale. Astfel rata portajului nasal de *S. aureus* este de 70% la personalul de spital față de cca 30% în populația generală. Prelevăm tampon nasal de la pacienții și personalul incluși în ancheta epidemiologică și *însămânțăm pe geloză-sânge sau pe mediul selectiv Chapman*. Incubăm peste noapte la 37°C și urmărim apariția coloniilor mari cu diametrul de 1-2 mm, S, bombate, rotunde. Pe geloză-sânge coloniile sunt frecvent hemolitice. Identificarea coloniilor pe mediu neselectiv este completată cu examenul microscopic al frotiului colorat Gram și testul coagulazei. Pe mediul selectiv verificăm puritatea izolatelor și dacă nu există colonii caracteristice prelungim incubarea până la 48 ore. Prelevarea trebuie repetată de 1-2 ori la interval de o săptămână pentru a stabili dacă este un portaj de durată sau tranzitoriu. Identificarea trebuie finalizată prin lizotipare.

(2) **Depistarea purtătorilor de *S. pyogenes***. Prelevăm tampon nasal (purtătorii nasali sunt mai periculoși, au potențial epidemic mai mare decât cei faringieni) și faringian sau nasofaringian. Cultivarea și identificarea au fost prezentate mai sus.

(3) **Depistarea purtătorilor de bacili difterici**. Odată cu reemergența difteriei depistarea portajului de bacil difteric trebuie intensificată datorită înmulțirii posibile a focarelor de difterie: existența unor grupe populaționale receptive la boală în condițiile lipsei unor programe de revaccinare, deoarece mulți ani nu au circulat tulpini toxigene de bacil difteric.

Prelevăm un tampon nasofaringian și unul faringian și le trimitem imersate în mediul de îmbogățire O.S.T. laboratorului.

(4) **Depistarea purtătorilor de *Haemophilus influenzae* serotip b**, invaziv. Simpla identificare în tamponul nasofaringian, fără serotipare, nu are valoare deoarece rata portajului de serotipuri noninvazive sau a tulpinilor necapsulate este mare.

43.7. EXAMENUL BACTERIOLOGIC AL PUROIULUI SINUSAL ȘI OTIC

Din puroiul obținut efectuăm un frotiu pe care-l colorăm Gram și însămânțăm pe geloză cu sânge ciocolatat incubată aerob în atmosferă cu 5% CO₂ și pe geloză-sânge incubată anaerob. Urmărim apariția culturii după incubare la 37°C până la 48 ore. Identificarea este în funcție de caracterele preliminare ale izolatelor.

43.8. PARTICULARITĂȚILE EXAMENULUI BACTERIOLOGIC ÎN LARINGITE ȘI EPIGLOTITE

Investigația bacteriologică în laringitele acute urmărește la copiii cu crup bacilul difteric. În laringitele cronice căutăm bacilul tuberculozei.

Epiglottita acută se manifestă clinic prin febră, stare toxică, disfagie, dispnee marcată până la asfixie, tablou clinic ce impune terapie antibacteriană de primă intenție.

La copiii între 2 și 4 ani această infecție severă este determinată de *Haemophilus influenzae* serovar b. La adult sunt implicați în etiologie streptococi, stafilococi, pneumococi, *Haemophilus paraphrophilus*.

Hemoculturile sunt pozitive cu *H. influenzae* tip b la 50% dintre copii. Nu este recomandată prelevarea pe tampon de la nivelul leziunii deoarece poate provoca spasm glotic și asfixie.

„În întreaga lume un copil moare de pneumonie
la fiecare 7 secunde.”

STATISTICILE OMS 1974-1999

Condiția microbiologică normală a tractusului respirator subglotic și factorii care o controlează deja i-ați studiat (☞ Subcapitolele 6.2. și 6.3.2.).

Acest capitol privește numai diagnosticul infecțiilor cu bacterii condiționat patogene. Diagnosticul infecțiilor cu microorganisme patogene primare, al micobacteriozelor și micozelor pulmonare îl urmăriți în capitolele respective.

44.1. ENTITĂȚI NOSOLOGICE ȘI ETIOPATOGENETICE

Infecțiile tractusului respirator inferior interesează:

- Bronșiile: bronșite acute;
- Parenchimul pulmonar: bronșiolite, pneumonii lobare acute, bronhopneumonii, pneumonii interstițiale zise și atipice primare, abcese.

Microorganisme patogene primare (virusuri cu tropism respirator, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila psittaci*, *Bordetella pertussis*, *Coxiella burnetii*, *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis* etc.) infectează gazde normoreactive. O diversitate de microorganisme condiționat patogene infectează gazde cu deficite ale barierelor antiinfecțioase locale (viroze respiratorii, mai ales gripa, inhalare de pulberi și gaze iritante, bronșita cronică, bronșiectazii, fibroza chistică, intubație traheală, traheostomii ș.a.) sau sistemice (imaturitatea barierelor antiinfecțioase; neutropenia, hipo- și agamaglobulinemia, deficite ale imunității celulare). Tabelul 44-1 sugerează diversitatea etiologică a infecțiilor respiratorii infraglotice funcție de condițiile predispozante și epidemiologice.

Infecțiile tractusului respirator inferior sunt mai frecvent exogene, contractate pe cale aerogenă, dar, posibil, și orală. Infecții endogene cu microorganisme din orofaringele normal, colonizat nosocomial ori disbiotic apar la gazde cu apărarea antiinfecțioasă compromisă. Infecția hematogenă este posibilă și evoluează ca abcese pulmonare.

Pneumoniile franc lobare acute și bronhopneumoniile generează bacteriemii și, prin propagare limfatică retrogradă, pleurezii.

Exsudatul și hipersecreția acumulate în lumenul bronșic generează expectorație mai abundentă în bronșite, mai redusă în pneumonii, chiar absentă în pneumoniile interstițiale. Vomică apare în evoluția abceselor pulmonare.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor respiratorii subglotice

Tabelul 44-1 Spectrul etiologic al infecțiilor respiratorii infraglotice funcție de sindroame și circumstanțele clinico-epidemiologice

Sindroame și circumstanțe	Microorganisme implicate
Bronșite	
Primare	Virusuri ¹⁾ , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i>
Acutizări ale bronșitei cronice	<i>Haemophilus influenzae</i> netipabil, pneumococi, <i>Staphylococcus aureus</i>
Pneumonii	
Domiciliare	
• Congenitale	Pneumococi, streptococi grup B, D, G, <i>Toxoplasma gondii</i> , v. rubeolic, <i>Chlamydia trachomatis</i> , BGN aerobi sau facultativi ²⁾ , <i>Treponema pallidum</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
• Până la 3 luni	<i>C. trachomatis</i> , v. citomegalic, <i>Pneumocystis carinii</i> , micoplasme genitale, streptococi grup B, <i>Escherichia coli</i> , <i>S. aureus</i>
• 3 luni – 5 ani	Virusuri ¹⁾ , pneumococi, <i>H. influenzae</i> serovar b, <i>Bordetella pertussis</i>
• 5 – 35 ani	<i>M. pneumoniae</i> , virusuri ¹⁾ , pneumococi, <i>C. pneumoniae</i>
• Peste 35 ani	Pneumococi, <i>S. aureus</i> , bacterii anaerobe ³⁾ , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>Coxiella burnetii</i>
• Suprainfecția gripei	Pneumococi, <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i>
Nosocomiale	BGN aerobi sau facultativi ²⁾ , <i>S. aureus</i> , pneumococi, bacterii anaerobe ³⁾ , frecvent tulpini de spital, levuri
Pneumonii de aspirație	
Domiciliare	Infecții mixte, în principal bacterii anaerobe ³⁾
Nosocomiale	Infecții mixte cu bacterii anaerobe ³⁾ și tulpini de spital, BGN ²⁾ , <i>S. aureus</i>
Intubație traheală	BGN aerobi sau facultativi ²⁾ , <i>S. aureus</i> , frecvent tulpini de spital
Gazdă compromisă	
• Hipogamaglobulinemie	Pneumococi, <i>H. influenzae</i> serovar b
• Deficit imun celular	Fungi ⁴⁾ , <i>Mycobacterium</i> spp., <i>Nocardia</i> spp., <i>Legionella</i> spp., <i>T. gondii</i>
• Neutropenie	BGN aerobi și facultativi ²⁾ , pneumococi, <i>Aspergillus</i> spp.
Epidemice	v. gripal, <i>M. pneumoniae</i> , <i>L. pneumophila</i> , <i>C. pneumoniae</i> , <i>C. psittaci</i>
Cronice	<i>Mycobacterium</i> spp., fungi ⁴⁾ , bacterii anaerobe ³⁾
Fibroză chistică	Bacilul piocianic, <i>S. aureus</i> , <i>H. influenzae</i>
Necrozante	Bacterii anaerobe ³⁾ , bacilul piocianic, <i>Klebsiella</i> spp., <i>S. aureus</i> , <i>Mycobacterium</i> spp.
Abcese	
Empieme	
• Copii sau tineri	<i>S. aureus</i> , pneumococi, <i>H. influenzae</i> , <i>S. pyogenes</i> , bacterii anaerobe ³⁾
• Adulți	Bacterii anaerobe ³⁾ , pneumococi, <i>S. aureus</i> , BGN aerobi sau facultativi ²⁾

Tabelul 44-1 (continuare)

- 1) Virusuri: *Copii până la 5 ani*: v. respirator sincițial, adenovirus, v. paragripale, v. gripal A, B, v. varicela-zoster, v. rujeolic, v. rubeolic, v. Epstein-Barr, enterovirus. *Adulți*: v. gripal A, B, v. varicela-zoster, v. Epstein-Barr, adenovirus.
- 2) BGN aerobi și facultativ anaerobi: *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, pseudomonade.
- 3) Bacterii anaerobe principale în infecțiile infraglotice ale tractusului respirator: peptostreptococi, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*; mai rar (în infecții domiciliare) *Actinomyces spp.*
- 4) Fungi: *Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus neoformans*, fungi dimorfi (*Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*).

44.2. PRELEVAREA ȘI TRANSPORTUL PROBELOR

Tractusul respirator infraglotic este contaminat, prin impact și sedimentare, cu un număr redus de microorganisme inhalate, dar rămâne necolonizat. Perturbări ale filtrării aerodinamice și transportului mucociliar favorizează colonizări traheo-bronșice trecătoare (viroze respiratorii, intubații traheale) sau de durată (bronșită cronică, fibroză chistică), care pot iniția infecția.

44.2.1. Prelevări uzuale

44.2.1.1. Prelevări contaminate pe traiectul de eliminare. Din această categorie examinăm: sputa, aspiratul hipofaringian și tamponul nasofaringian.

Contaminarea orofaringiană a sputei și aspiratului hipofaringian face dificilă interpretarea rezultatelor, mai ales în infecțiile oportuniste și la pacienți sub terapie antibacteriană. Un riguros control citologic de calitate al probelor elimină semnificativ rezultatele fals pozitive.

(1) **Sputa** este prelevată curent. Probe corespunzătoare calitativ obținem la internarea în spital prin tuse spontană, profundă și supravegheată. Pacientul trebuie să fie cooperant în sensul că înțelege diferența dintre a expectora și a scuipa și are resursele fizice pentru o tuse profundă care să mobilizeze exsudatul și secrețiile bronho-alveolare. Periajul simplu al dinților, clătirea energetică a gurii și gargara cu apă fiartă și răcită sunt de dorit înaintea prelevării. Dacă, macroscopic, proba apare constituită în principal din salivă, insistă imediat pentru prelevarea unei noi probe care să conțină exsudat mucopurulent. În infecțiile acute o probă mucopurulentă cu volum de 1-2 mL este suficientă.

Probele prelevate în colector steril din plastic, cu gură largă și capac etanș, trebuie etichetate și expediate imediat laboratorului, fără refrigerare, pentru examinare în interval de maximum o oră.

(2) **Aspirația hipofaringiană** este indicată la sugari.

(3) **Tamponul nasofaringian** prelevat pernasal este util numai pentru depistarea patogenilor primari care nu aparțin microbiotei indigene: virusuri respiratorii, *Mycoplasma pneumoniae*, chlamidii ș.a.

44.2.1.2. Probe necontaminate. Examinăm hemoculturi și aspirat pleural. Elimină incertitudinile create de contaminarea orofaringiană.

(1) **Hemoculturi** practicate în primele trei zile de evoluție a pneumoniilor lobare acute (☞ Capitolul 40) sunt pozitive la cca 30% din bolnavi.

(2) **Aspiratul pleural** trebuie examinat întotdeauna când este depistat (☞ Capitolul 42).

44.2.2. Prelevări care șuntează contaminarea orofaringiană

Aceste prelevări agresive cer înaltă calificare, implică riscuri pentru pacient, sunt

Diagnosticul de laborator al infecțiilor respiratorii subglotice

irepetabile și oferă probe cu volum redus. Sunt indicate în infecții grave (e.g., cele survenite la pacienți din servicii de terapie intensivă) sau pentru a exclude infecția bacteriană în pneumopatii cu multiple opțiuni diagnostice (neoplasm, embolii pulmonare). Contraindicațiile privesc pacienții cu hipoxemie severă, hemoptizii, diateze hemoragice. Tratatamentul anterior cu antibiotice este o contraindicație relativă a procedurii (riscul rezultatelor fals negative). Prelevările prin fibroscop cu cateter protejat prin telescopare sunt valoroase pentru că oferă probe necontaminate prelevate ținând din leziuni.

- **Aspirația protejată.**

- **Periajul bronșic** protejat tinde să înlocuiască aspirația transtraheală. Este de fapt o biopsie ținută realizată printr-o minusculă perie fixată la extremitatea unui fir rigid protejat de cateterul telescopat.

Prelevări bronhoscopice mai puțin protejate de contaminarea orofaringiană sunt: **aspirația simplă** prin tubul fibroscopului și **spălătura bronho-alveolară** realizată prin injectarea urmată de aspirația unei mici cantități de soluție izotonă caldă prin lumenul fibroscopului. Sunt utile doar pentru depistarea micobacteriilor, legionelelor, levurilor.

44.3. EXAMINAREA PROBELOR

44.3.1. Microscopia

În probele de exsudat bronho-pulmonar alegem fragmente mucopurulente din care facem frotiuri etalate în strat cât mai subțire și uniform. Sunt necesare următoarele colorații:

- **Gram** pentru triajul de calitate al prelevatelor contaminate (spută, aspirat hipofaringian) și citobacterioscopie cantitativă;
- **Giemsa** pentru detalii citologice, depistarea unor fungi (*Histoplasma*, *Coccidioides*, *Pneumocystis carinii* etc.);
- **Ziehl-Neelsen** pentru urmărirea bacililor acido-rezistenți. Infecții bronho-pulmonare acute pot surveni la pacienți cu tuberculoză contagioasă, dar încă nedepistați.

Urmărirea unor patogeni particulari cere colorații speciale: colorația Dieterle sau imunofluorescență pentru *Legionella* ș.a. În infecțiile cronice eventuala prezență a fungilor trebuie urmărită și pe preparatul umed montat în soluție de KOH.

În probele contaminate cu scorul de calitate „Q” < +1 sau cu raportul celule inflamatorii/celule epiteliale scuamoase < 5, depistarea unor condiționat patogeni rezidenți ai orofaringelui este irelevantă clinic (CD 9-14,15). Se impune prelevarea imediată a unei probe noi cu scor de calitate ameliorat. Proba cu scor de calitate necorespunzător poate fi examinată în continuare numai pentru urmărirea unor patogeni care nu aparțin microbiotei orofaringiene, dar cu o sensibilitate funcție de cantitatea absolută a realului produs patologic vehiculat de probă. Citobacterioscopia cantitativă a probelor cu scorul de calitate satisfăcător permite un diagnostic prezumtiv rapid al agentului etiologic (CD 9-12,13) și constituie baza de interpretare a semnificației izolatelor din cultură.

Criteriul calitativ pentru aspiratul transtraheal este prezența celulelor inflamatorii.

44.3.2. Cultivarea probelor

Prealabil însămânțării, sputa poate fi decontaminată prin spălarea fragmentelor mucopurulente în trei băi succesive de soluție salină izotonă. În probele cu scorul de calitate Q +3 spălarea reduce numărul contaminanților cu 10^{-3} fără a afecta bacteria infectantă înglobată în trama fibrinoasă a exsudatului. Spălarea decontaminează probele de spută cu atât mai puțin cu cât scorul Q este mai mic. Decontaminarea chimică este rezervată pentru izolarea micobacteriilor (Capitolul 19).

Izolarea semicantitativă. Probele cu contaminare orofaringiană sunt epuizate pe câte o placă cu geloză-sânge și una cu geloză-ciocolat, care sunt incubate numai aerob la 37°C (contaminanții anaerobi din asemenea probe sunt în cantități enorme și interferează izolarea bacteriilor semnificative clinic). Doar prelevatele necontaminate le însămânțăm suplimentar și pe o a doua placă cu geloză-sânge pentru incubare anaerobă.

Dacă după 24 ore de incubare nu apar în cultură bacteriile observate pe frotiul direct semnificativ asociate celulelor inflamatorii, plăcile sunt reincubate până la 48 ore.

În cazul prelevatelor contaminate identificăm și comunicăm numai izolatele predominante și în cantitate mare (creștere cel puțin până în al 3-lea cadran de epuizare) asociate semnificativ polimorfonuclearelor și fibrinei pe frotiul direct (CD 9-13). Bacteriile asociate (streptococi viridans, stafilococi coagulazo-negativi) sunt de contaminare și nu sunt comunicate în buletinul de analiză.

Izolarea cantitativă este necesară din prelevatele prin periaj bronșic. Este semnificativă clinic bacteria prezentă în cantitate de cel puțin 10^3 UFC în mililitrul de mediu care scaldă perișta de prelevare. La izolare cantitativă putem recurge și din probele de spută care au fost în prealabil omogenizate cu N-acetilcisteină. Este semnificativă clinic bacteria care realizează $\geq 10^7$ UFC/mL spută.

Antibiograma se impune pentru toate izolatele clinice semnificative.

Patogenii cum sunt: *M. pneumoniae*, *Legionella*, chlamidii, *Coxiella burnetii*, virusurile impun metode speciale de prelevare și transport, microscopie prin metode speciale de colorație sau imunofluorescență, izolarea în anumite medii de cultură ori în culturi de celule. Aceste metode sunt accesibile numai anumitor laboratoare. Pentru unele dintre aceste infecții este posibil diagnosticul serologic (e.g., viroze, *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*). De preferat sunt tehnicile care permit depistarea anticorpilor IgM (e.g., ELISA). Urmărirea dinamicii anticorpilor dă rezultate prea tardive.

45.1. ENTITĂȚI NOSOLOGICE ȘI ETIOPATOGENETICE

Infecția tractusului urinar (ITU) este frecventă în patologia umană. Afectează toate vârstele. La nou-născut și sugar prevalența este mai mare la băieți decât la fete, bacteriemia este frecvent prezentă și aproximativ 1% dintre copii au bacterii în vezica urinară. Ulterior raportul se inversează. Până la vârsta de 65 de ani prevalența la sexul masculin este scăzută, perioadă în care aproximativ una din cinci femei prezintă o ITU simptomatică. Peste 65 ani, diferența dintre sexe dispare prin creșterea prevalenței la bărbați condiționată de afecțiunile prostatei și manoperele invazive pe care acestea le impun.

Patogeneza și evoluția ITU este influențată de anatomia tractusului urinar. În practica curentă ITU sunt clasificate în: ITU înalță/joasă, ITU complicată/necomplăcată, episod unic *versus* infecție recurentă.

ITU joase includ:

• *Cistita*, infecție superficială a mucoasei vezicale; evoluează cu disurie, polachiurie, dureri hipogastrice. • *Uretrita* are aceeași simptomatologie ca și cistita. • *Prostatita* și *epididimita*; prostatita cronică este principala cauză de cistită recurentă la bărbat.

ITU înalte includ: • *Pielonefrita acută*, o inflamație a parenchimului renal cu evoluție gravă, care se poate complica cu necroza papilară. Pacienții acuză dureri lombare și febră precedate (cu 24-48 ore) de simptome de ITU joasă. • *Pielonefrita cronică* (subclinică), formă gravă ce se poate complica cu insuficiență renală și hipertensiune arterială.

ITU necomplicată este termenul general acceptat numai pentru cistita la femeia în afara sarcinii, fără anomalii de structură sau disfuncții neurologice și care răspunde prompt la tratament.

ITU complicată se referă la infecția ce apare la copil, bărbat, femeia gravidă, asociată cu anomalii structurale sau disfuncții neurologice. Necesită spitalizare, investigații radiologice și urologice și este dificil de tratat. La nou-născut infecția ITU este considerată indicator al sindromului septicemic. Afirmatia este susținută și de frecvența hemoculturilor pozitive în aceste situații.

Dacă ITU evoluează sub formă de episod unic, evoluția este favorabilă. La pacienții cu ITU recurentă sunt prezente episoade repetate de bacteriurie cu sau fără manifestări clinice. În cadrul infecțiilor recurente discutăm despre recădere (implică infecția cu același microorganism și existența unui focar infecțios în parenchimul renal sau prostatic) sau reinfecție cu implicarea altei bacterii.

Condiția microbiologică a tractusului urinar (Capitolul 6). Perturbarea mecanică sau funcțională a fluxului urinar însoțită de creșterea spațiului mort urinar rup echilibrul

Prelevarea și transportul și conservarea probelor

microorganism–gazdă, în defavoarea gazdei, cu apariția colonizării urinei sau infecției căilor urinare. Acești factori sunt: • **mecanici**: prezența calculilor, stricturi uretrale, stricturi ale colului vezical, hipertrofia prostatei, compresiune uretrală prin uter gravid, tumori pelvine; • **funcționali**: leziuni neurologice (tabes, traumatisme medulare etc.), reflux vezico-ureteral, modificarea compoziției urinare care favorizează creșterea bacteriană (sarcină, diabet zaharat), lezarea mucoasei prin instrumentații, prezența corpurilor străini care favorizează inițierea și întreținerea infecției.

Invasia ITU se poate produce pe cale: ascendentă, limfatică sau hematogenă. **Calea ascendentă** este cea mai importantă pentru bacteriile condiționat patogene. **Calea limfatică**: experimental este demonstrată propagarea pe cale limfatică a infecției tractusului urinar inferior spre bazinet. **Calea hematogenă** presupune existența unei infecții sistemice cu bacteriemie sau septicemie. Localizarea renală poate fi ocazională (pielonefrite cu *Haemophilus influenzae*, abcese renale stafilococice, tuberculoza renală, bruceleza etc.) sau constantă (leptospiroză). În febrele enterice eliminarea renală a bacteriei se realizează fără leziuni renale manifeste clinic.

Escherichia coli, cel mai frecvent agent etiologic al ITU, este implicată prin serogrupurile uropatogene (O1, O2, O4, O6, O7, O75) care prezintă: adezine ce recunosc receptorii sfingolipidici ai uroepiteliului (pili P și M), abundența antigenului K, rezistența la acțiunea bactericidă a serului sanguin, producerea de hemolizină.

Alte enterobacteriacee, enterococi, *Pseudomonas aeruginosa* sunt implicate în infecții cronice sau recurente la pacienți cu obstrucții ale tractusului urinar, disfuncții neurologice sau instrumentații ale căilor urinare.

Staphylococcus saprophyticus este implicat în apariția cistitelor, mai ales la femei tinere active sexual.

Proteus, *Klebsiella*, *Corynebacterium urealyticum*, bacterii producătoare de urează, alcalinizează urina și favorizează producerea de calculi. *Corynebacterium urealyticum* este mai ales implicat în ITU la pacienți spitalizați, tratați timp îndelungat cu antibiotice sau cu intervenții urologice.

Adenovirusurile (serovar 11, 21) determină cistite hemoragice la copil. Virusurile eliminate prin urină (urlian, rujeolic, citomegalic) nu determină manifestări de ITU.

45.2. PRELEVAREA, TRANSPORTUL ȘI CONSERVAREA PROBELOR

Prelevate utile diagnosticului de ITU:

- urina pentru examen sumar de urină și examenul bacteriologic al urinei, în toate cazurile;
- sânge, la pacienții cu pielonefrită, pentru hemocultură (40% din pacienții cu pielonefrită acută au hemoculturi pozitive), leucogramă, VSH, fibrinogen, uremie, creatininemie;
- LCR la nou-născut.

45.2.1. Prelevarea urinei pentru examenul cito-bacteriologic

Prelevări uzuale: proba curată prinsă în zbor din jetul mijlociu. La copilul mic necooperant prelevăm proba prinsă în zbor fără decontaminare specială a organelor genitale.

Prelevări speciale: aspirația suprapubiană, prelevări prin cateter.

45.2.1.1. Proba curată prinsă în zbor din jetul mijlociu previne contaminarea probei cu microorganisme vehiculate de firele de păr, de orice fel de particule din regiunea perineală, lenjerie sau antrenate o dată cu urina din uretra distală, pliul balano-prepuțial sau de pe mâini.

Momentul prelevării: prima urină de dimineață sau după cel puțin 3 ore de la micțiunea anterioară.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractusului urinar

Volumul prelevat: cca 20 mL pentru izolarea cantitativă a microorganismelor condiționat patogene; 50 mL pentru izolarea patogenilor specifici.

Necesar și tehnică:

– asistentă special instruită și cabinet de recoltări dotat cu: chiuvetă, săpun, hârtie igienică, bideu, masă ginecologică pentru femei; urinoar pentru recolta la bărbați. Recipient cu săpun lichid, tampoane și irigator plasate în dreptul bideului, mesei ginecologice sau urinoarului.

– recoltor steril, din plastic, cu gură largă, capac și volum de 100 mL.

Asistenta asigură întregul necesar, explică pacientului instrucțiunile de recoltare, ajută pacientele atunci când este necesar (fig.45-1).

1. Recolta la femei:

– pacienta își scoate lenjeria intimă,
– își spală mâinile cu apă și săpun și le usucă cu hârtie igienică,
– încalecă bideul,
– cu o mână îndepărtează labiile mici și le menține în această poziție pe toată durata recoltei,

– cu cealaltă mână șterge vulva în sens unic, din față în spate, de 3 ori, de fiecare dată cu un tampon steril cu săpun lichid,

– clătește abundant, cu ajutorul irigatorului, cu apă caldă sterilă pentru îndepărtarea săpunului

– prin ștergere în sens unic usucă zona decontaminată folosind 2 tampoane sterile, altfel prin pelicula de lichid pot fi antrenate în jetul de urină microorganisme din zonele nedecontaminate,

– începe micțiunea cu eliminarea primului jet, aprox. 100 mL,

– continuă micțiunea (jetul mijlociu) în borcanul steril, cu precauția de a nu atinge gura borcanului de tegument sau lenjerie

– în timp ce labiile sunt încă depărtate și micțiunea continuă, retrage borcanul.

La pacientele cu scurgeri vaginale recolta se face pe masa ginecologică, iar după toaleta regiunii vulvare, asistenta introduce în vagin un tampon steril.

2. Recolta la bărbat:

– pacientul își spală mâinile cu apă și săpun și se usucă cu hârtie de toaletă,

– își retractă prepuțul pentru a decalota complet glandul,

– își șterge glandul ferm, în sens unic, dinspre meatul uretral spre șanțul balano-prepuțial, peste fren, de 3 ori cu câte un tampon steril de tifon îmbibat cu săpun lichid,

– își clătește glandul abundant cu apă caldă sterilă pentru a îndepărta urmele de săpun; la bărbați irigatorul poate fi înlocuit cu o simplă cană,

– își usucă glandul cu 2 tampoane sterile de tifon, cu utilizare unică, procedând din față spre fren,

– își menține în continuare glandul decalotat și urinează cca 100 mL,

– fără a întrerupe jetul, recoltează în borcanul steril cca 20 mL urină, după care retrage borcanul în timp ce micțiunea continuă.

3. Prelevarea de la nou-născut și sugar este dificilă. După decontaminarea și uscarea organelor genitale și perineului, fixăm în jurul penisului sau al vulvei o pungă sterilă din material plastic și pândim momentul micțiunii pentru a detașa punga. Altă soluție ar fi prinderea probei într-un flacon cu gura largă.

4. Prelevarea probei prinsă în zbor, din jetul mijlociu, fără decontaminarea specială a organelor genitale, este indicată pentru depistarea unor patogeni specifici și supravegherea epidemiologică a ITU cu organisme condiționat patogene (e.g., consult prenatal al gravidelor).

ERORI!

- Recolta în eprubetă sau într-un vas mare cu transvazarea ulterioară a probei.
- Prelevarea la domiciliu.

45.2.1.2. Prelevări speciale

1. Aspirația suprapubiană șuntează contaminarea uretrală a probelor. Practic la femei urina vezicală poate fi contaminată (frecvent în cursul actului sexual) și ocazional colonizată cu 10^{2-3} UFC/mL, iar contaminarea prin aspirație de secreții uretrale, determinată de palparea care precede puncția suprapubiană, poate realiza concentrații de 10^2 UFC/mL aspirat. Este indicată la nou-născuți, sugari, pacienți adulți la care examinarea repetată a probelor din jetul mijlociu dă rezultate neconcludente, cât și pentru stabilirea semnificației clinice a anaerobilor din urină.

Pacientul bine hidratat nu micșionează până când la percuția suprapubiană este prezentă matitate vezicală, iar la palparea regiunii apare necesitatea micșionii imperioase. Tegumentul pregătit (eventual depilare) este decontaminat cu alcool iodat și puncționat suprapubian cu o seringă de 10 mL cu ac 22G. La copil puncția este favorizată de poziția ventrală a vezicii urinare.

Proba este transportată în tub de 16/160 mL la laborator. Pentru izolarea anaerobilor, în lipsa containerelor speciale, urina este expedită direct în seringă.

Poate apărea uneori hematurie de scurtă durată.

2. Prelevarea prin cateter reduce riscul contaminării probei, dar expune pacientul la riscul infecției, care este de 1% pentru pacienții ambulatori și de 10% la cei spitalizați. Are indicații limitate la pacienții necooperanți, la cei care nu micșionează din cauze urologice sau neurologice, pacienți cu cateter *à demeure* sau cateterizați pentru explorare urologică. Prelevarea este realizată de urolog. La sfârșit, în vezica golită complet instilează preventiv 50 mL soluție salină izotonă cu 40 mg neomicină și 20 mg polimixină B sau colimicină.

ERORI!

- Prelevarea direct din punge de drenaj.
- Cultivarea vârfului cateterului colonizat cu bacterii din uretră, care nu sunt neapărat implicate în infecție, sau contaminat la retragerea cateterului.

Probele de urină trebuie examinate bacteriologic în maxim 2 ore. Când nu este posibil, probele pot fi refrigerate la $+4^\circ\text{C}$, imediat după prelevare, maxim 24 de ore.

Buletinul-cerere de analiză trebuie să cuprindă următoarele informații: modul și ora de prelevare, diagnosticul clinic, dacă pacientul primește diuretice sau tratament antimicrobian, examenul solicitat.

45.3. ROLUL LABORATORULUI ÎN DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL ITU

Laboratorul confirmă sau infirmă diagnosticul de ITU, identifică agentului cauzal și îi testează sensibilitatea la antibiotice, evaluează eficiența antibioterapiei, diferențiază ITU joasă/ ITU înaltă.

45.3.1. Examenul cito-bacterioscopic al urinei ca metodă rapidă pentru diagnosticul ITU

Examenul microscopic al preparatului umed în camera hemocitometrică și al frotiului colorat Gram permit un diagnostic rapid, prin definirea principalelor semne paraclinice ale ITU: piuria care semnalează inflamația, și bacteriuria, care indică agentul etiologic.

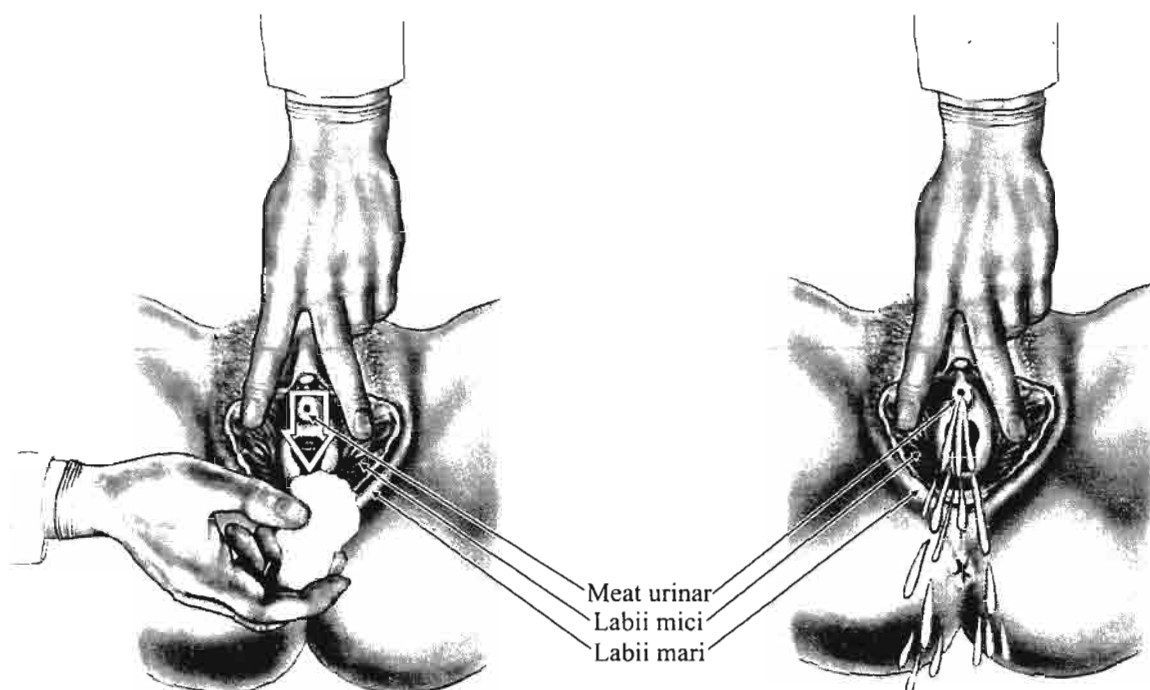
45.3.1.1. Aprecierea piuriei. Prezența în urina omogenizată a peste 10 leucocite/mm³ semnifică piuria, iar a mai puțin de 3 leucocite/mm³ o exclude cu indicatori de eficiență diagnostică apropiați de 100%. Concentrațiile între 3 și 10 leucocite/mm³ reprezintă o zonă incertă. La nevoie, în aceste cazuri determinăm rata orară a excreției leucocitare: eliminarea a peste 400.000 leucocite/oră este piurie. Prezența pe frotiul colorat Gram a cel puțin un leucocit în medie/câmp microscopic la mărire de 1000X semnifică și ea piuria cu predicție pozitivă de 95% și specificitate de 98%. Piuria poate avea multe cauze, ITU fiind doar una

$1 \text{ WBC} / \text{câmp M.O.}$
 $\rightarrow$ piurie.

$>10 \text{ WBC} / \text{mm}^3 = \text{piurie}$

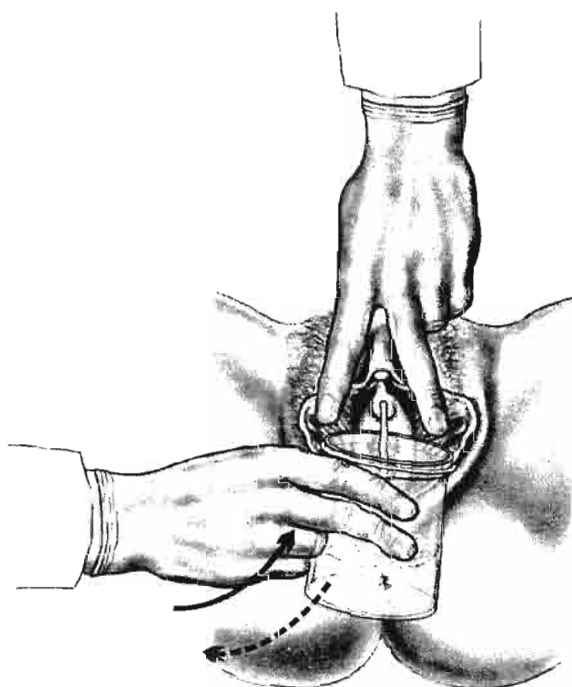
$<3 \text{ WBC} / \text{mm}^3 = \text{normal}$

3-7 $\rightarrow$ det. art. de excreție WBC.



Fiecare tampon șterge în sens unic dinspre meatul urinar spre anus fără a-l atinge.

Primul jet de urină (50-100 ml) decontaminează uretra.



Introdu și scoate recoltorul din jet cât acesta este proiectat din vezică. Ferește zona contaminată de atingere cu gura recoltorului și cu urina din jetul mijlociu (nu lăsa pacienta să întrerupă jetul cât timp efectuezi prelevarea; numai așa previi scurgerea urinei peste zona perianală nedecontaminată).

Fig. 45-1 Exemplu de poster explicativ pentru prelevarea corectă a probei de urină prinsă în zbor din jetul mijlociu (vezi textul)

dintre ele, de aceea predicția pozitivă pentru ITU a piuriei izolate este mediocră. Prezența a mai mult de 5 celule epiteliale scuamoase/mm³ în urina omogenizată, mai ales în asociația levuri-bacterii gram-pozitive, semnifică contaminare vaginală sau uretrală a probei, inacceptabilă pentru urocultura cantitativă.

45.3.1.2. Bacterioscopia. Prezența bacteriilor în urină poate fi explicată prin colonizarea urinei vezicale de către contaminanți ocazionali, infecția căilor urinare, contaminarea probei micșionate prin microbiota uretrei distale sau vulvo-vaginale. Cantificăm orientativ bacteriile pe frotiul din urină omogenizată efectuat cu ansă calibrată de 0,01 ml și colorat Gram. Prezența în medie a 1-2 bacterii/câmp microscopic la examinarea cu mărire de 1000X corespunde la 10⁵ UFC/mL. Bacteriuriile de cel puțin 10⁵ UFC/mL sunt statistic semnificative pentru ITU determinată de bacterii condiționat patogene.

Bacteriuriile cu bacterii patogene au semnificație clinică indiferent de cantitatea în care sunt prezente. Sensibilitatea depistării lor crește dacă concentrăm probele și utilizăm medii de îmbogățire.

Importanța citobacterioscopiei directe a urinei mai rezidă și din faptul că:

- Diferențiază ITU de colonizarea abortivă sau contaminarea urinei;
- Depistează prezența bacteriilor fastidioase (*Corynebacterium urealyticum*, *Haemophilus* spp.);
- Orientează antibioterapia de urgență în pielonefritele acute.

45.3.2. Urocultura cantitativă

Metoda de referință este urocultura cantitativă prin însămânțare cu pipeta gradată.

Etalăm câte 0,1 mL din diluția 10⁻² a urinei omogenizate, pe o placă cu geloză-sânge și pe una cu mediu MacConkey (mediu slab selectiv, care inhibă creșterea invazivă a *Proteus* spp. și este favorabil bacililor gram-negativi). Dacă bacterioscopia indică mai mult de 10 bacterii /câmp microscopic, epuizăm o ansă din probă pe mediul slab selectiv pentru a obține cultura pură necesară identificării. Dacă bacterioscopia este negativă, epuizăm pe aceleași medii 0,1 mL din urina nediluată și în diluție 10⁻², dacă probele provin de la paciențele cu sindrom uretral sau au fost prelevate prin cateter ori prin aspirație suprapubiană.

Incubăm plăcile aerob la 37°C.

A doua zi numărăm coloniile de același tip dezvoltate pe suprafața plăcilor. Calculăm bacteriuria după formula:

$$\text{Nr. UFC/mL} = N \times D \times 1/\text{volumul însămânțat}$$

N = numărul coloniilor de pe placă; D = inversul diluției.

Exprimăm rezultatul prin ordinul de mărime al bacteriuriei (e.g. <10³ UFC/mL sau > 10⁵ UFC/mL).

Când există discrepanțe între cultură (absentă sau număr mic de colonii) și bacterioscopie (pozitivă):

- Verificăm dacă nu au fost inversate probele.
- Verificăm dacă proba nu conține substanțe antimicrobiene.
- Prelungim incubarea peste 24 ore sau, după caz,
- Solicităm o nouă probă de urină. Pot fi implicate bacterii exigente nutritiv, care nu cultivă pe mediile oferite (e.g., *Haemophilus influenzae*), sau anaerobe (prelevăm o nouă probă prin aspirație suprapubiană, transportată corespunzător, cultivată pe geloză-sânge

1-2 bacterii
câmp M.O
↳ 10⁵
UFC/mL.
↓
ITU
pt.
bacterii
condit
patogene

Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractusului urinar

pentru incubare anaerobă). Poate fi în cauză și o infecție persistentă cu forme L la pacienții aflați sub terapie cu β -lactamine.

45.3.3. Interpretarea rezultatelor

Un singur izolat care depășește concentrația de 10^5 UFC/ mL urină. La femei asimptomatice, izolarea $\geq 10^5$ UFC bacili coliformi/mL pe o singură probă are predicție pozitivă de 0,80 care crește la 0,95 în condițiile izolării aceleiași bacterii pe o a 2-a probă – suficient pentru necesitățile clinice. La bărbat (risc mai scăzut al contaminării probei) izolarea $\geq 10^5$ UFC ale unei singure specii coliforme/mL confirmă ITU.

Două tipuri de izolate care depășesc fiecare 10^5 UFC/mL. Pe o singură probă este cel mai frecvent contaminare. Izolarea în cantitate semnificativă a acelorași bacterii din 2 probe confirmă infecția mixtă (la 10% din pacienți pe probe de urină din jet mijlociu și 36% din pacienții cateterizați).

Mai multe bacterii sunt izolate fiecare depășind 10^5 UFC/mL urină. Contaminare grosieră sau multiplicarea contaminanților în urina nerefrigerată examinată tardiv. Recomandăm examinarea unei noi probe cu respectarea normelor prescrise.

O singură specie este izolată în concentrație de 10^{4-5} UFC/mL de urină. Au semnificație clinică stafilococii în concentrații $\geq 5 \times 10^4$ UFC/mL urină, levurile cu concentrații $\geq 10^4$ UFC/mL. La femei cu simptome sugestive și în prezența piuriei, bacteriuriile de acest ordin cu bacili coliformi prezente în 2 probe de urină confirmă rezultatul. La bărbați este confirmată ITU chiar pentru pragul de $\geq 10^3$ UFC/mL bacili coliformi.

Absența creșterii sau bacteriurie de ordinul 10^{3-4} UFC/mL în concordanță cu examenul bacterioscopic direct negativ exclud la femeie ITU cu bacterii condiționat patogene.

Dacă *E. coli* realizează concentrația de 10^{3-4} UFC/mL urină la o pacientă cu sindrom uretral acut și piurie recomandăm examinarea unei noi probe pentru confruntare. În această concentrație bacili corineformi, neisseriile nepretențioase, stafilococii, sunt contaminanți.

ATENȚIE! La gravide, *Listeria monocytogenes* prezentă în urină, indiferent de cantitate, impune măsuri pentru prevenirea listeriozei fetale.

45.3.4. Evaluarea eficienței antibioticoterapiei

După 48 de ore de la inițierea tratamentului, rezultatul uroculturii de control trebuie să fie absența creșterii sau o concentrație $< 10^3$ UFC/mL urină. Cauze de eșec terapeutic sunt selecția unor mutante rezistente, pH urinar necorespunzător acțiunii substanțelor antimicrobiene (cotrimoxazol, nitrofurani), asocierea unor cauze organice.

45.4. EXAMENUL BACTERIOLOGIC AL URINEI PENTRU IZOLAREA UNOR PATOGENI SPECIFICI

Urocultura pentru diagnosticul tuberculozei renale. Sensibilitatea izolării crește dacă, în fiecare după-amiază ce precede recoltarea celor 3 probe matinale consecutive de urină din jetul mijlociu (~50 mL/probă), pacientul are regim hidric restrictiv. Probele sunt concentrate și decontaminate, apoi sedimentul neutralizat este însămânțat pe mai multe tuburi cu mediu Löwenstein–Jensen incubate la 37°C. Apariția culturilor trebuie urmărită până la 8 săptămâni.

Examenul urinei pentru depistarea leptospirelor. Leptospirele mor repede în mediu acid, de aceea pacientului îi administrăm citrat de potasiu pentru alcalinizarea urinei. Sedimentul urinei proaspăt recoltată din jetul mijlociu îl însămânțăm în mediul Korthof, îl

Examenul bacteriologic al urinei pentru izolarea unor patogeni specifici

injectăm intraperitoneal la cobai și îl examinăm pe preparat umed între lamă și lamelă la microscopul pe fond negru.

Urocultura pentru izolarea bacililor tifici la bolnavi sau purtători. Sedimentul unei probe de cca 20 mL proaspăt recoltate din jetul mijlociu, îl însămânțăm în bulion selenit pentru îmbogățire, timp de 12-18 ore, la 37°C. Din acest mediu de îmbogățire repicăm pe un mediu cu selectivitate joasă sau medie. Urmărim bacilii tifici prin repicare din mediul de îmbogățire pe un mediu selectiv (☞ Capitolul 11.2.3.).

„Există zone pe Glob, în special țări în curs de dezvoltare unde, în ultima decadă, bolile cu transmitere sexuală au crescut dramatic. Patru dintre acestea, gonoreea, sifilisul, trichomonaza și chlamidiaza au fost apreciate în 1995 la 333 milioane noi cazuri; aceste infecții și complicațiile lor figurează printre primele zece boli care afectează omul.”

ORGANIZAȚIA MONDIALĂ A SĂNĂȚĂȚII, 1999

46.1. INFECȚIILE TRACTUSULUI GENITAL FEMININ

Tractusul genital la femeie este reprezentat de: • vulvă, vagin, exocol uterin; • endocolul uterin; • uterul, trompele și ovarele. Condiția microbiologică a acestor zone a fost prezentată în Capitolele 6.2.5., 6.3.5.

46.1.1. Entități nosologice și etiopatogenice

Infecțiile care evoluează la acest nivel pot fi încadrate în două categorii:

(i) Infecții exogene, determinate mai ales de microorganisme patogene primare cu transmitere sexuală:

- bacterii - *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* (serotipurile D-K și L1-L3), *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *Calymmatobacterium granulomatis*;
- virusuri - *Herpes simplex* tip 2, mai rar tip 1, *Papillomavirus*;
- protozoare – *Trichomonas vaginalis*;

(ii) Infecții endogene, determinate în anumite condiții de specii din microbiota vaginală (bacterii facultativ sau strict anaerobe, specii *Candida*).

Mult mai rar unele microorganisme ajung la acest nivel pe cale hematogenă.

Expresia clinică a acestor infecții este prezentată în tabelul 46-1.

Infecțiile genitale sunt rare la fete, recunoscând o creștere evidentă odată cu debutul activității sexuale. O particularitate a infecțiilor bacteriene cu transmitere sexuală la femeie este evoluția lor frecvent asimptomatică, cu multiple implicații:

- lipsa unui tratament etiotrop crește riscul infecțiilor ascendente sau sistemice, iar sarcina ectopică și sterilitatea sunt frecvent o consecință a bolii inflamatorii pelvine;
 - netratate, pot fi transmise vertical la produsul de concepție, în cursul sarcinii sau la nașterea pe cale naturală;
 - femeia asimptomatică reprezintă rezervorul care întreține aceste infecții în colectivitate.
- Diagnosticul unei infecții cu transmitere sexuală la bărbat necesită imperativ investigații și tratament la partenera sau partenerile sexuale;

—sursa de infecție poate transmite simultan, pe cale sexuală, mai mulți agenți etiologici, fiind necesară depistarea activă a infecțiilor cu incubatie mai lungă sau fără manifestări clinice.

Tabelul 46-1 Spectrul etiologic al infecțiilor genitale la femeie, în funcție de sindroame și circumstanțe clinico-epidemiologice

Sindroame și circumstanțe	Microorganisme implicate
Vulvo-vaginite la femeie (condiționate de activitatea hormonală ovariană)	<i>C. albicans</i> , mai rar <i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> <i>T. vaginalis</i>
Vulvo-vaginite la fete	<i>S. pyogenes</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , posibil <i>Enterobius vermicularis</i>
Vaginoze (întâlnite rar și la fete)	<i>G. vaginalis</i> + bacterii anaerobe (<i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Peptostreptococcus</i>) + micoplasme genitale
Leziuni ulcerative* (vulvă, vagin, exocol) numai în țări tropicale și subtropicale	<i>T. pallidum</i> (stadiu primar), Herpes simplex tip 2, mai rar tip 1 <i>H. ducreyi</i> , <i>C. trachomatis</i> (L1-L3), <i>C. granulomatis</i>
Leziuni verucoase (vulvă, vagin, exocol)	<i>T. pallidum</i> (stadiu secundar), <i>Papillomavirus</i> , foarte rar <i>Sarcoptes scabiei</i>
Vaginite + manifestări sistemice ale sindromului șocului toxic (tampon hiperabsorbant intravaginal menținut mai mult de 8 ore)	<i>S. aureus</i>
Bartolinite Abces al glandei Bartholin	<i>N. gonorrhoeae</i> , specii din microbiota vaginală facultativ sau/și strict anaerobă, rar <i>C. trachomatis</i> (D-K)
Endocervicite	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>C. trachomatis</i> (D-K), Herpes simplex tip 2, mai rar tip 1
Endometrite acute <i>postabortum</i> , <i>postpartum</i> , implantare sterile	Bacterii facultativ sau/și strict anaerobe din microbiota vaginală; foarte rare, dar deosebit de grave infecții cu <i>S.</i> <i>pyogenes</i> , <i>C. perfringens</i>
Endometrite cronice	<i>C. trachomatis</i> , <i>M. tuberculosis</i>
Boală inflamatorie pelvină (salpingite, salpingo- ovarite, anexite, pelvipertonite)	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>C. trachomatis</i> , infecții cu bacterii din microbiota vaginală, rar <i>M. tuberculosis</i>

* Favorizează transmiterea virusului imunodeficienței umane.

46.1.2. Infecții care evoluează în zone normal colonizate

46.1.2.1. Prelevarea și transportul probelor. După o anamneză atentă (numărul partenerilor sexuali, tipul de relații sexuale etc.) și un examen clinic general, pacienta este examinată pe masa ginecologică.

Inspecția începe cu organele genitale externe. La acest nivel, diagnosticul microbiologic este solicitat în special pentru **leziuni ulcerative**. Pentru investigarea etiologiei luetice, șterge ulcerarea cu o compresă sterilă, evitând sângerarea. Presează marginile leziunii între degete (protejate de mănușă) până obții o cantitate mică de serozitate; aceasta, aspirată cu pipeta Pasteur, va servi la realizarea unui preparat umed între lamă și lamelă, examinat imediat la microscopul cu fond întunecat. Când laboratorul poate asigura diagnosticul prin

Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractusului genital

imunofluorescență, efectuează din serozitate frotiuri pe lame speciale pentru examinare la microscopul cu UV.

Etiologia herpetică a unei leziuni ulcerative poate fi investigată prin testul Tzanck: șterge ferm cu tamponul din vată steril suprafața ulcerăției, urmărind desprinderea celulelor epiteliale, și din produsul astfel prelevat realizează frotiuri pentru colorația Giemsa. În raport cu posibilitățile de investigație ale laboratorului, pot fi efectuate preparate microscopice pentru diagnosticul prin imunofluorescență al infecției cu virusul herpetic tip 1 și 2. Puține cabinete pot beneficia de diagnosticul prin izolarea virusului pe culturi de celule.

În continuare introdu blând în vagin două valve sterile umezite cu apă caldă, fără lubrefiant, pentru examinarea aspectului mucoasei vaginale și a exocolului. În **prezența leucoreei vaginale** prelevă trei tampoane din secreția detașată cu una din valve din fundul de sac posterior:

- un tampon va fi descărcat într-o cantitate mică de soluție salină izotonă care va fi trimisă ca atare la laborator;

- al doilea tampon va servi la etalarea extemporanee a produsului pe două lame, destinate microscopiei;

- al treilea tampon va fi folosit pentru însămânțări pe medii de cultură.

În cabinetul de consultații sunt posibil de realizat două teste orientative de diagnostic pe secreția recoltată pe valvă:

- 1) – determinarea pH-ului cu ajutorul hârtiei indicator, o valoare $> 4,5$ fiind întâlnită în infecția cu *T. vaginalis* și în vaginoze;

- 2) – testul aminelor volatile, care constă în depunerea câtorva picături din soluția 10% KOH; în vaginoze se degajă imediat un miros dezagreabil de pește alterat.

La examinarea orificiului colului uterin există, în condiții normale, o secreție cu aspect mucos, mai filantă în perioada ovulatorie, mai vâscoasă în faza luteală a ciclului. În prezența unei **scurgeri purulente cervicale** procedează la ștergerea suprafeței exocolului cu 2-3 comprese sterile pentru îndepărtarea secrețiilor stagnante; introdu apoi succesiv în endocol, pe o distanță de 1-2 cm în profunzime, 3 tampoane care sunt menținute, fiecare, câteva secunde, apoi rotite, urmărind desprinderea de celule de la nivelul mucoasei endocolului:

- Din primul tampon realizează extemporaneu două frotiuri destinate examenului bacterioscopic;

- Din al doilea tampon realizează un preparat microscopic destinat examenului citologic pentru diagnosticul infecției cu *C. trachomatis* sau cu virusul herpetic. Efectuarea de frotiuri pe lame subțiri pentru diagnosticul prin testul de imunofluorescență al celor două infecții este de preferat atunci când laboratorul poate asigura acest tip de investigație, mai sensibilă și specifică. Testul ELISA folosit în decelarea LPS chlamidian reprezintă o alternativă de diagnostic;

- 3) – Al treilea tampon din dacron sau din vată netoxică, destinat diagnosticului prin cultură a infecției cu *N. gonorrhoeae*, este plasat într-un mediu de transport adecvat (e.g., mediul Amies, Stuart) și expediat la laborator la temperatura camerei într-un interval de maxim 12 ore. Cele mai bune rezultate le obținem prin însămânțarea directă a produsului pe medii de izolare, selective și neselective transportate la laborator în atmosferă cu CO_2 (sistemul Jembec).

La femeia histerectomizată examinăm secreția uretrală.

În caz de **bartolinite**, dacă la palparea glandei apare la nivelul orificiului de deschidere un exsudat purulent, acesta va servi pentru investigația microscopică și prin cultură a etiologiei gonococice. În caz de constituire a unui abces, recoltează puroi prin puncție cu seringă. Trimite seringă la laborator.

La **fetițe virgine cu leucoree**, secreția va fi recoltată de la nivelul orificiului de deschidere a vaginului, recurgând la trei tamponane destinate realizării de frotiuri și culturi, în raport cu particularitățile etiologice la această vârstă.

46.1.2.2. Microscopia probelor. În **leziuni ulcerative** ale organelor genitale, examinarea preparatului umed la microscopul cu fond întunecat permite evidențierea *T. pallidum*, identificată după caracterele morfologice și de mobilitate (Capitolul 20.1.). Specificitatea examenului microscopic este ameliorată prin testul de imunofluorescență directă.

Pe unele frotiuri colorate Giemsa, celule desprinse de la nivelul ulcerăției apar multinucleate și cu incluzii intranucleare, ceea ce sugerează etiologia herpetică. O altă posibilitate de diagnostic al acestei infecții o reprezintă testul de imunofluorescență directă, accesibil unui număr redus de laboratoare clinice.

În **vulvovaginite**, la examinarea preparatului umed la microscopul obișnuit remarcăm prezența reacției inflamatorii (raportul PMN/CES > 1); această metodă este recomandată pentru evidențierea *T. vaginalis*, recunoscut după formă, mărime și aspectul mobilității în câmpul microscopic. Într-o vaginită candidozică pot fi puse în evidență celule levurice și pseudomicelii (forma invazivă) de *Candida*, în prezența unei reacții inflamatorii mai modeste. În vaginoze, lipsesc celulele inflamatorii iar > 20% dintre celulele epiteliale vaginale superficiale au pe suprafața lor o abundentă floră bacteriană care le maschează conturul (clue cells).

Frotiul colorat Gram examinat cu imersie permite o apreciere mai exactă a microorganismelor vaginale. În vaginitele candidozice este prezent aspectul descris pentru preparatul umed, celulele levurice și pseudomiceliile fiind intens gram-pozitive. În vaginoze, flora lactobacilară este înlocuită de numeroși cocobacili gram-variabili, uneori în asociație cu bacili gram-negativi subțiri și încurbați sau/și coci gram-pozitivi în scurte lanțuri.

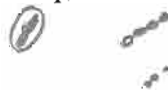
Când laboratorul nu primește decât 2 frotiuri pentru examinarea microscopică a secreției vaginale, *T. vaginalis* poate fi evidențiat pe frotiul colorat Giemsa sau cu albastru de metilen, sensibilitatea fiind mai redusă față de preparatul umed.

În **endocervicite**, frotiurile colorat Gram și cu albastru de metilen evidențiază prezența reacției inflamatorii (> 10 PMN pe câmpul microscopic examinat cu imersie). Examenul bacterioscopic este rar edificator pentru infecția gonococică; aspectul cel mai frecvent întâlnit, de diplococi gram-negativi „în boabă de cafea” predominant extracelulari, nu face posibilă diferențierea pe criterii morfotinctoriale a *N. gonorrhoeae* de *Veillonella parvula*, prezentă în microbiota vaginală.

Pe frotiul colorat Giemsa, în puține cazuri pot fi evidențiate celulele epiteliale cervicale cu incluzii intracitoplasmice unice paranucleare, sugestive pentru infecția cu *C. trachomatis*. Testul de imunofluorescență directă, cu o sensibilitate de 0,56-1,0 și specificitate de 0,82-1,0, va fi efectuat ori de câte ori este posibil. Prezența celulelor gigante multinucleate pledează pentru endocervicită herpetică, ce poate evolua fără leziuni vulvare.

În **bartolinite**, microscopia poate sugera etiologie gonococică; puroiul recoltat prin puncție poate prezenta bacterioscopic o diversitate de morfotipuri legată de multitudinea agenților etiologici posibili (*Enterobacteriaceae*, *S. aureus*, genul *Streptococcus*, *Bacteroides* etc.).

La **fetițe**, în vulvovaginitele gonococice diagnosticul poate fi stabilit pe baza prezenței pe frotiurile colorate Gram și cu albastru de metilen a reacției inflamatorii asociată cu diplococi gram-negativi „în boabă de cafea”, predominant intracelulari. În vulvovaginitele determinate de *S. pyogenes* sunt prezenți coci gram-pozitivi în diplo sau scurte lanțuri, alături de PMN.



Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractusului genital

46.1.2.3. Însămânțarea probelor. Secreția vaginală la femeie va fi însămânțată pe medii pentru izolarea speciilor *Candida*, fiind recunoscută sensibilitatea relativ redusă, de 0,55, a examenului microscopic. Rezultatul pozitiv al culturii va fi interpretat în contextul datelor clinice, cunoscută fiind prezența acestor microorganisme în microbiota vaginală la 10-20% dintre femei. Când este posibil, se pot realiza culturi pe medii speciale pentru *T. vaginalis*. Cultivarea *G. vaginalis* nu este recomandată în diagnosticul vaginozelor întrucât este lipsită de specificitate.

La fete secreția vulvo-vaginală va fi însămânțată pe geloză-sânge pentru izolarea *S. pyogenes* și pe medii selective și neselective pentru *N. gonorrhoeae* (geloză Mueller-Hinton cu supliment HYL, mediu Thayer-Martin etc.). O orientare în alegerea mediilor de cultură este oferită de microscopia directă.

La femeia cu șoc toxic stafilococic, posibilitatea unei vaginite cu *S. aureus* în contextul utilizării de tampoane hiperabsorbante intravaginale este investigată prin însămânțare pe geloză-sânge. Izolarea acestei specii în contextul clinic poate susține diagnosticul chiar în absența evidențierii producerii de toxine.

În **endocervicite**, diagnosticul prin cultură este posibil pentru etiologia gonococică. Izolarea pe culturi de celule a *C. trachomatis*, deși este considerată metodă de referință, cu o sensibilitate de 0,7-0,8 și specificitate 1,0, nu este accesibilă majorității laboratoarelor clinice. Aceeași problemă o ridică și izolarea virusului herpetic pe culturi de celule.

Puroiul aspirat dintr-un **abces al glandei Bartholin** este însămânțat pe medii aerobe și anaerobe, solide și lichide care să permită izolarea agenților etiologici posibili (*N. gonorrhoeae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. aureus*, *B. fragilis* etc.); în cazul unui puroi „steril” poate fi luată în considerație o infecție cu *C. trachomatis* sau *U. urealyticum*.

46.1.3. Infecții genitale înalte

Examinarea secrețiilor endocervicale nu este adecvată pentru diagnosticul etiologic al infecțiilor genitale înalte, cu excepția bacteriilor cu transmitere sexuală, a *S. pyogenes* sau *C. perfringens*. Specii bacteriene prezente în microbiota vaginului pot fi agenți etiologici ai acestor infecții, dar intervin și ca bacterii de contaminare.

46.1.3.1. Prelevarea și transportul probelor. În aceste condiții, este recomandat ca după obținerea produsului endocervical să fie badijonat exocolul, inclusiv orificiul de deschidere cu betadină, apoi un cateter steril este introdus în canalul cervical până în cavitatea uterină și este aspirat lichidul endometrial cu o seringă adaptată la extremitatea liberă a cateterului. Produsul poate fi trimis ca atare la laborator, după adaptarea unui ac steril și evacuarea aerului.

În pelvipерitonite, puroiul acumulat în fundul de sac Douglas va fi recoltat prin punționare cu seringă (culdocenteză), după decontaminarea cu betadină a peretelui vaginal în zona care bombează.

În caz de piosalpinx sau abces tubar rezolvate chirurgical, recoltează intraoperator puroi prin punționarea colecției și aspirarea produsului în seringă. Prelevă de asemenea fragmente de țesut afectat, plasate într-un mediu de transport (mediu Amies aerob și anaerob), care cresc șansa diagnosticului etiologic.

Laparoscopia recomandată la pacientele cu boală cronică pelvină permite recoltarea exsudatului inflamator de la nivelul ostiumului tubar sau din fundul de sac; această metodă nu este folosită încă la noi în practica explorărilor ginecologice.

Pentru diagnosticul bacteriologic al tuberculozei genitale recoltează fragmente de mucoasă chiuretată de la nivelul celor două fețe ale cavității uterine în perioada premenstruală, plasate, pentru transport la laborator, într-o cantitate mică de apă distilată sterilă.

46.1.3.2. Microscopia. Prezența *N. gonorrhoeae* și *C. trachomatis* este investigată în prelevatul endocervical sau produse recoltate intraoperator după metodologia deja descrisă.

Produsele aspirate din cavitatea uterină, prin culdocenteză sau intraoperator, vor fi examinate microscopic pe frotiu colorat cu albastru de metilen și Gram, fiind descrise reacția celulară și morfotipurile bacteriene prezente, afinitatea lor tinctorială și raporturile cantitative.

46.1.3.3. Însămânțarea probelor. Produsele mai sus menționate, din care s-au efectuat frotiuri colorate Gram, sunt epuizate pe medii aerobe (geloză-sânge, geloză-ciocolat, mediu MacConkey) și anaerobe (geloză Schaedler).

Pentru diagnosticul tuberculozei genitale însămânțăm produsul mojarat sau triturat, după decontaminare, pe mediul Löwenstein-Jensen; de preferat însămânțarea pe medii speciale lichide, în condițiile accesului la un sistem automat de monitorizare a culturilor (MB/BacT).

46.1.4. Alte investigații de laborator

Infecția asimptomatică cervicală cu *Papillomavirus*, care poate conduce la displazii ale mucoasei și cancer intraepitelial de col uterin, este depistată prin examenul citologic al frotiului realizat din prelevatul din endocol și colorat după metoda Papanicolau; acest test este recomandat a fi efectuat anual la femeile active sexual.

Infecția luetică, infecția înaltă cu *C. trachomatis*, infecția primară herpetică, eventual infecția cu virusul imunodeficienței umane (la prostituate) vor fi investigate serologic.

În infecțiile genitale înalte acute, în special endometrite, se efectuează hemoculturi pe medii aerobe și anaerobe.

46.2. INFECȚIILE TRACTUSULUI GENITAL MASCULIN

Tractusul genital la bărbat este reprezentat de uretră (segment comun cu tractusul urinar), prostată, canale ejaculatorie, vezicule seminale, canale deferente, epididim, testicule. Cu excepția uretrei distale, toate celelalte zone sunt normal sterile.

Infecțiile genitale la bărbat, ca și cele descrise la femeie, sunt cauzate la vârsta tânără de **microorganisme exogene** cu transmitere sexuală; după 35 ani, intervin mai ales **microorganisme endogene** ce pot determina prostatite, epididimite sau epididimo-orchite prin reflux urinar în ductul prostatic în cursul infecțiilor urinare oportuniste sau prin extindere pe cale limfatică de la nivelul mucoasei rectale; însămânțarea pe cale hematogenă este o eventualitate rară. Sindroamele clinice determinate de aceste microorganisme sunt prezentate în tabelul 46-2.

46.2.1. Prelevarea și transportul probelor. Leziunile ulcerative de la nivelul organelor genitale externe (gland, penis, scrot) sunt examinate în aceleași condiții cu cele descrise în subcapitolul 46.1.

În uretrite, investigăm predilect etiologia gonococică prin examinarea secreției uretrale recoltate după un interval de minim 4 ore de la ultima micțiune. După toaleta locală cu apă și săpun și uscarea zonei cu comprese sterile, produsul obținut prin mulgerea blândă a uretrei peniene este recoltat de la nivelul meatului urinar pe două tampoane din dacron sau vată atoxică:

- un tampon servește la realizarea extemporanee a două frotiuri;
- al doilea tampon este plasat într-un mediu de transport (Amies, Stuart) sau însămânțat imediat pe medii adecvate (☞ Subcapitolul 46.2.3.).

Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractusului genital

Dacă secreția este minimă sau absentă recurgem, la prelevarea intrauretrală pentru care folosim tamponane fine umezite în soluție salină izotonă sterilă pe care le introducem prin meatul urinar în uretră pe o distanță de 2-3 cm profunzime, le menținem câteva secunde, apoi le rotim ușor înainte de a fi retrase.

Tabel 46-2 Spectrul etiologic al infecțiilor genitale la bărbat, în funcție de sindroame și circumstanțe clinico-epidemiologice

Sindroame și circumstanțe	Microorganisme implicate
Organe genitale externe (gland, penis, scrot)	
Leziuni ulcerative numai în zone tropicale	<i>T. pallidum</i> (stadiu primar), v. <i>Herpes simplex</i> <i>H. ducreyi</i> , <i>C. trachomatis</i> (L1-L3), <i>C. granulomatis</i>
Leziuni verucoase	<i>Papillomavirus</i> , <i>T. pallidum</i> , <i>Sarcoptes scabiei</i>
Uretrite	
Gonococice	<i>N. gonorrhoeae</i>
non-gonococice	<i>C. trachomatis</i> , <i>U. urealyticum</i> , rar <i>M. genitalium</i> , <i>M. hominis</i> , <i>T. vaginalis</i> , v. <i>Herpes</i> <i>simplex</i> , <i>T. pallidum</i> , <i>N. meningitidis</i>
Prostatite	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>E. faecalis</i> , rar <i>S. marcescens</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. trachomatis</i> , <i>U. urealyticum</i>
la imunodepresați	<i>C. neoformans</i> , <i>H. capsulatum</i> , <i>C. immitis</i> , specii <i>Aspergillus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>M. avium</i> , citomegalovirus
Abces prostatic	Bacili gram-negativi coliformi și pseudomonade, <i>S. aureus</i> , rar bacterii anaerobe nesporulate
Epididimite, epididimo-orchite la tineri peste vârsta de 35 ani	<i>C. trachomatis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> Bacili gram negativi coliformi, pseudomonade, enterococi, rar <i>C. trachomatis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>M. tuberculosis</i>
Orhite	Virusul urlian, rar Coxsackie B

Uretritele non-gonococice sunt definite prin excluderea etiologiei gonococice. Puține laboratoare au posibilitatea să asigure diagnosticul etiologic al acestora, fiind necesare, în acest caz, medii speciale de transport. Cazurile rare de uretrite determinate de *T. vaginalis* pot fi investigate în condiții de recoltare, transport și examinare identice cu cele menționate la femeie sau recurgem la microscopia sedimentului urinar al micțiunii matinale.

La homosexuali facem recoltări suplimentare pe tampon de la nivelul mucoasei rectale.

În prostatite, recoltăm trei probe seriate de urină, pacientul fiind pregătit identic ca pentru realizarea unei uroculturi (☞ Capitolul 45):

- prelevăm primii 5-10 mL urină (proba 1) într-un recipient steril cu gura largă;
- lăsăm să se evacueze 100-200 mL urină, care vor spăla uretra;
- recoltăm alți 5-10 mL urină (proba 2);
- masăm rectal prostata;
- recoltăm următorii 5-10 mL urină care conțin secreția prostatică (proba 3).

Probele vor fi trimise într-un interval minim de timp la laborator.

În abordarea chirurgicală a unui **abces prostatic** puroiul trebuie prelevat prin aspirare în seringă, cu evacuarea aerului înainte de trimitere la laborator.

În **epididimite** și **epididimo-orchite**, infecții ascendente de la nivelul uretrei sau prostatei, prelevăm secreție uretrală sau probe seriate de urină.

În **orchite**, diagnosticul este de regulă clinic.

46.2.2. Microscopia directă. Prezența, în frotiul colorat Gram sau cu albastru de metilen din secreția uretrală, a unei reacții inflamatorii ce corespunde unui număr > 5 PMN pe câmpul microscopic cu imersie este definitorie pentru **diagnosticul de uretrită**. În uretrita gonococică acută sunt prezenți numeroși diplococi gram-negativi în „boabă de cafea” predominant intracelulari (așa numitele „celule burate”), aspect deosebit de caracteristic pentru această etiologie. În infecția cronică, diplococii gram-negativi, în număr redus, au o dispoziție predominant extracelulară, diagnosticul microscopic fiind numai orientativ.

În cele trei probe seriate de urină apreciem numărul de leucocite/ μ L în cameră Fucus-Rosenthal. Pot fi înregistrate mai multe aspecte:

- un număr important de leucocite în prima probă, în celelalte două numărul fiind mai redus sau absent, este sugestiv pentru **diagnosticul de uretrită**;

- un număr de leucocite aproximativ egal în cele trei probe este semnificativ pentru o infecție urinară;

- în **prostatite**, numărul de leucocite în proba 3 este de cel puțin 10 ori mai mare decât în primele două probe.

Examinarea frotiului colorat Gram, realizat cu ansa calibrată (0,01 mL) din cele trei probe de urină după agitare, permite precizarea morfotinctorială a bacteriilor prezente.

46.2.3. Însămânțarea produselor. Însămânțarea secreției uretrale pe medii pentru izolarea *N. gonorrhoeae* este necesară pentru confirmarea examenului microscopic în forma cronică a infecției, dar este utilă în toate cazurile pentru depistarea tulpinilor producătoare de penicilinază.

Însămânțarea cantitativă a celor trei probe seriate de urină se realizează pe geloză sânge și mediu MacConkey. În prostatite, numărul de bacterii din proba 3 este semnificativ mai mare (de cel puțin 10 ori) față de proba 2.

46.2.4. Alte investigații de laborator. Pacienții cu uretrite gonococice sau non-gonococice vor fi investigați serologic pentru depistarea unei eventuale infecții luetice și, după caz, a infecției cu virusul imunodeficienței umane (relații sexuale cu parteneri multiple, mai ales din categoria prostituatelor).

În prostatitele acute sunt recomandate în paralel hemoculturi pe medii aerobe și anaerobe.

47 DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PERINATALE

CARMEN PÂNZARU

47.1. GENERALITĂȚI

Definiții: **făt** – produsul de concepție între a 8-a săptămână de viață intrauterină până la naștere; **nou-născut** – copilul în primele 28 de zile ale vieții; **infecții neonatale precoce** – infecțiile din primele 5 zile de viață, produse intrauterin sau *intrapartum*; **infecții neonatale tardive** survin după 7 zile și sunt frecvent inițiate de colonizările *postpartum* cu tulpini bacteriene care au potențial patogen particular pentru nou-născut (☞ Subcapitolul 6.2.3.3. și capitolele referitoare la patogenii care vor fi citați).

Infecția nou-născutului la termen sau a prematurului este evidențiată de la naștere sau în primele 3-4 săptămâni de viață. Condițiile particulare de apariție permit recunoașterea a două tipuri de infecții ce diferă prin etiopatogenia lor:

- infecții materno-fetale, transmise de la mamă intrauterin sau *peripartum*;
- infecții postnatale dobândite *postpartum*.

Prematuritatea poate fi factor favorizant în inițierea infecției, dar în același timp infecțiile fetale pot fi cauză a prematurității.

47.2. INFECȚIILE MATERNO-FETALE

47.2.1. Infecțiile materno-fetale intrauterine

Fătul se dezvoltă într-un mediu steril, protejat de microorganismele materne prin placenta și membranele amniotice. Vaginul și cervixul uterin, placenta și uterul implicate într-un proces infecțios devin porți de intrare a infecției produsului de concepție (fig.47-1).

47.2.1.1. Placenta. După infecția primară din timpul sarcinii, prin diseminare sanguină este infectată placenta (placentită) și apoi fătul. Aceste infecții congenitale au drept urmare fie moartea fătului și avort spontan, fie nașterea unui făt mort, fie supraviețuirea acestuia în cazul infecțiilor mai puțin severe. Nou-născutul cu infecție congenitală este cu greutate mică, nu crește, prezintă anomalii ce pot fi evidențiate uneori târziu în copilărie, rămâne infectat pentru o lungă perioadă de timp, fiind sursă de agent infecțios.

Etiologia și manifestarea clinică a infecțiilor congenitale. O serie de virusuri produc transplacental infecții cu efecte teratogene: **virusul rubeolic, citomegalovirusul, v. herpes**

simplex, v. Cocksackie B, v. urlian

(Capitolul 28.2.).

Virusul imuno-deficienței umane determină SIDA congenital: 1 din 5 copii născuți din mame infectate cu HIV sunt infectați *in utero*. **Virusul varicela-zoster** determină infecție congenitală gravă cu leziuni cutanate, musculo-articulare și ale sistemului nervos central când mama contractează infecția atât de târziu în cursul sarcinii încât nu mai poate elabora anticorpi care să ajungă, transplacentar, în titruri protectoare pentru făt. **Virusul hepatitei B** determină hepatita congenitală B persistentă, care se poate transmite și imediat *postpartum*. Infecții congenitale grave determină *Mycobacterium leprae* (de la mame cu lepră lepromatoasă) și *Toxoplasma gondii* (leziuni grave, malformații congenitale).

Infecții care se pot transmite transplacentar, dar și *intrapartum* sau imediat *postpartum*, sunt determinate de *Treponema pallidum* subspecia *pallidum* (sifilis congenital), *Listeria monocytogenes* (septicemie cu numeroase leziuni granulomatoase pluriviscerale: *granulomatosis infantiseptica*), sau v. herpes simplex (*herpes neonatorum*).

Sindromul TORCH (toxoplasmosis, other, rubella, cytomegalovirus, herpes) definește aceste infecții care au în comun următoarele: boala inaparentă sau cu evoluție ușoară la mamă; la copil manifestări clinice similare (hepatosplenomegalie, encefalită, leziuni oculare, greutate mică la naștere), determină sechele; confirmarea este obținută prin diagnostic serologic.

47.2.1.2. Endometru (endometrite); **vagin**, pe cale ascendentă (cervico-vaginite) sau prin contiguitate interesând membranele amniotice. Ruptura prematură a **membranelor amniotice** deschide calea ascendentă pentru bacteriile vaginale.

47.2.2. Infecții materno-fetale perinatale sau *intrapartum*

În cursul travaliului fătul, traversând canalul cervico-vaginal, este contaminat și începe colonizarea cutaneo-mucoasă cu microorganisme rezidente în căile genitale ale mamei. Posibilitățile de infecție sunt multiple, mai ales dacă travaliul este însoțit de defecație. Majoritatea bacteriilor rezidente sunt avirulente, spre deosebire de cele ocazional și tranzitoriu prezente în flora vaginală:

- bacili gram-negativi (*E. coli* K₁ etc.), streptococul de grup B sunt cauze de septicemie care, fără tratament corect, determină meningite fatale.

- *Neisseria gonorrhoeae* determină conjunctivita neonatală și oftalmia, cauză frecventă de orbire în trecut, înainte de sistematizarea profilaxiei prin instilare conjunctivală a soluției de nitrat de argint la naștere.

- *Chlamydia trachomatis*. Dintre nou-născuții mamelor infectate 20-25% fac conjunctivită foliculară și 10-30% pneumonie neonatală în săptămânile 6-10 de viață.

- Virusul herpes simplex determină infecție herpetică neonatală ce poate fi prevenită de nașterea prin cezariană, dar este greu de diagnosticat infecția maternă; nou-născutul poate fi tratat cu aciclovir.

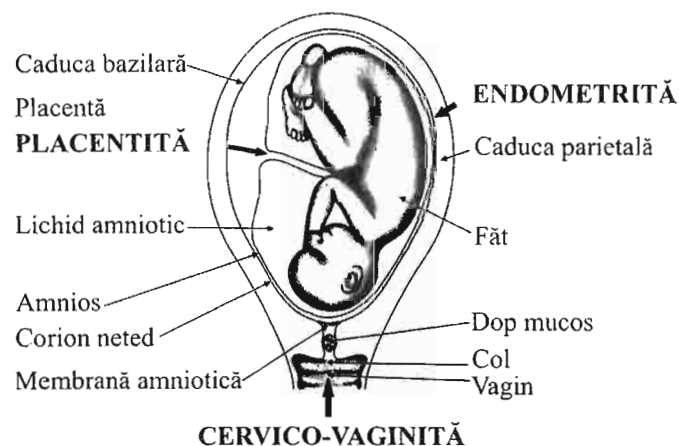


Fig. 47-1 Căile de transmitere a infecțiilor materno-fetale

Diagnosticul infecțiilor perinatale

- Infecția cu papilomavirus este urmată de leziune laringiană a nou-născutului.

În infecțiile ce apar după persistența mai mult de 48 de ore a rupturii membranelor fetale sunt implicate următoarele bacterii: streptococi de grup B, *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacteroides*, stafilococi, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma*. Aceste bacterii pot fi implicate și în infecțiile tardive ale nou-născutului dacă acestea survin *postpartum*.

Investigațiile microbiologice pentru depistarea cazurilor cu risc impun:

(1) Înainte de naștere:

- Examenul periodic cito-bacteriologic al urinei în scopul prevenirii pielonefritei și insuficienței renale cronice; infecțiile urinare ale gravidei evoluează frecvent asimptomatic.
- Examenul cito-bacteriologic al leucoreei în scopul identificării bacteriilor cu transmitere sexuală și a unor anomalii ale florei cervico-vaginale.
- Hemocultură, urocultură dacă gravida prezintă febră, chiar dacă este puseu unic.

Listerioza este recomandat a fi prioritar exclusă.

- Prelevarea lichidului amniotic dacă survine ruptura prematură a membranelor. Prezența polinuclearelor asociată unui singur morfotip bacterian definește infecția amniotică.

(2) La naștere:

La *mamă*, după caz, prelevatele sunt aceleași ca mai sus, plus fragmente de placentă.

La *nou-născut* în suspiciunea de infecție neonatală prelevăm: lichid de aspirație gastrică, hemoculturi, LCR.

(3) **După naștere:** Recunoașterea infecției materne este foarte importantă deoarece precede cu ore sau zile primele simptome prezente la nou-născut. Obținem prelevate atât de la copil cât și de la mamă. Pentru *Chlamydia trachomatis* și micoplasme sunt necesare condiții particulare de prelevare și cultivare.

47.2.3. Infecțiile postnatale

47.2.3.1. Surse și căi de transmitere. Infecțiile contractate după naștere sunt determinate de microorganisme prezente în mediul de viață al copilului:

- Tehnici de îngrijire și de diagnostic (cateterism, resuscitare cardio-respiratorie, **mâinile nespălate ale personalului cresc de 5 ori șansele de contaminare**).

• Mama în timpul alăptatului, fie direct (*Staphylococcus aureus* – abces al sânului, infecția mamelonului), fie indirect (bacil gram-negativ de pe biberon nespălat sau contaminat). Laptele matern poate conține HTLV-1, CMV, HIV, dar cu excepția HTLV-1 nu este considerat sursă de agent infecțios. În caz de suspiciune este recomandată pasteurizarea laptelui matern.

• În creșe și secțiile de terapie intensivă pot fi prezente epidemii de gastroenterite acute. Etiologia lor este mai mult bacteriană (*Salmonella*, *E. coli* enteropatogen) decât virală (rotavirus).

Meningitele neonatale sunt rare, dar cu mortalitate ridicată (40%) și sechele la 30% dintre supraviețuitori. Agenți infecțioși: *E. coli* K₁, streptococ grup B serotip III, pneumococi, *Listeria monocytogenes*, meningococi, alți streptococi, *Staphylococcus aureus*. Prematuritatea, nou-născutul cu greutate mică la naștere, travaliul laborios, puseu febril matern în timpul travaliului reprezintă factori de risc pentru meningitele neonatale.

Pentru diagnosticul bacteriologic de la nou-născut recoltăm hemocultură și alte prelevate în funcție de simptomatologie.

47.2.3.2. Etiologia infecțiilor postnatale. Sunt implicate bacterii prezente în mediul spitalicesc (☞ Capitolul 50).

Staphylococcus aureus este frecvent implicat din 1950. Copiii din secțiile de nou-născuți sunt colonizați și unii dezvoltă leziuni cutanate uneori severe cu diseminare sanguină (☞ Capitolul 8). După aplicarea măsurilor de control al infecției intraspitalicești, externarea rapidă a nou-născuților sănătoși, aplicații topice profilactice, în nări, cu hexaclorofen, incidența acestor infecții a scăzut, dar astăzi asistăm la recrudescența lor, cu implicarea stafilococilor metilicilino-rezistenți.

În ultimii ani *Staphylococcus epidermidis* și alți stafilococi coagulazo-negativi sunt cauzele cele mai frecvente de infecții la nou-născuți, urmare a manoperelor terapeutice invazive (canule intravenoase, respirație asistată) și a rezistenței la antibioticele de rutină.

Klebsiella, *Serratia* spp., *Pseudomonas aeruginosa* pot fi cauze de izbucniri epidemice în secțiile de nou-născuți. Alți bacili gram-negativi implicați: *E. coli*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*.

Virusul Echo 11, Adenovirus 7, 8 pot determina infecții severe dificil de controlat.

Candida spp. pot determina infecții încrucișate în secțiile de nou-născuți.

Monitorizarea de rutină a purtătorilor contribuie puțin la prevenirea infecției, dar este utilă supravegherii epidemiologice direcționată către identificarea tulpinilor cu potențial de răspândire rapidă și cauzatoare de boli severe. Igiena severă de spital este esențială (☞ Capitolul 50).

EXAMENUL MICROBIOLOGIC ÎN SINDROMUL DIAREIC INFECȚIOS

CARMEN PÂNZARU

Din 1980' până în prezent *morbiditatea* prin boală diareică a rămas *neschimbată*, între 744 milioane și 1 miliard de episoade anual, mai ales în țările subdezvoltate. Ceea ce *s-a schimbat*, grație terapiei de rehidratare orală, este *numai rata mortalității* de la 5 milioane în 1980' la 1,5 milioane în 1999.

Din statisticile O.M.S., 1980-1999

Cercetarea reacției inflamatorii în scaunul diareic pentru diagnosticul rapid al dizenteriei a fost utilizată de medicii englezi în Primul Război Mondial pe frontul de la Thesalonik. *Uitată*, a fost *redescoperită* decenii mai târziu și *azi larg utilizată* în clasificarea sindroamelor diareice.

48.1. ENTITĂȚI NOSOLOGICE ȘI ETIOPATOGENETICE

Sindromul diareic este o entitate clinică individualizată prin: • scaune frecvente (3- 40/ 24 de ore), semiconsistente, uneori apoase, determinând • pierderi lichidiene (până la 20 litri/24 ore) ce pot duce la • dezechilibre hidroelectrolitice însoțite de • colaps cardiovascular urmat de deces.

În patologia infecțioasă diareea apare în numeroase entități clinice însoțită și de alte simptome și semne digestive, eventual sistемice: febră, grețuri, vărsături, dureri abdominale, tenesme rectale, reacție inflamatorie în scaun, unele prezente, altele absente, în funcție de agentul infecțios implicat.

Tabelul 48-1 sugerează diversitatea etiologică a bolii diareice acute în raport cu circumstanțele clinico-epidemiologice.

În sindromul diareic infecțios conduita terapeutică imediată este reechilibrarea hidroelectrolitică. Boala se vindecă adesea spontan în 24-72 de ore. Coprocultura este astfel fără impact terapeutic imediat; rezultatele sale după 48-72 de ore apar când pacientul este vindecat. De aceea imperatiуele investigației microbiologice în boala diareică acută sunt trei: pacientul să nu mai sufere, suferința să nu se agraveze, familia și colectivitatea generală să fie protejate de eventuala răspândire epidemică a bolii.

48.2. PRELEVAREA PROBELOR

Când este indicată coprocultura?

– În shigeloze, holeră, studiul precoce al campilobacteriozei, gastroenterite cu *Yersinia enterocolitica* sau salmonelozice la vârste extreme, imunosupresați, la care există riscul bacteriemic; infecții cu protozoare.

– Când există risc crescut de extindere a infecției în colectivitate (diaree apărută în colectivități pediatriе, îmbolnăviri ale personalului din alimentația publică, din creșe, de la stațiile de potabilizare a apei; investigarea diareei turiștilor în suspiciunea de holeră, giardiază, amibiază etc.

– La pacienți cu diaree apărută în cursul terapiei antibiotice și care persistă câteva zile după întreruperea tratamentului.

Tabelul 48-1 Spectrul etiologic al bolii diareice acute în funcție de circumstanțele clinico-epidemiologice

Sindroame și circumstanțe	Agenți infecțioși implicați	
	Frecvent	Cu incidență neprecizată sau rari
Sindrom holeriform Gastroenterită acută cu scaune apoase, abundente, vărsături, deshidratare acută, <u>febră absentă sau puțin importantă</u> , <u>absența leucocitelor în scaun</u>	Vibroni holerigeni Vibroni NAG Patotipuri diareigene de <i>E. coli</i> (ECET, ECEP, ECAD, ECEAg) Rotavirus	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> Agentul Norwalk Enterovirusuri Adenovirusuri Coronaviruri Astrovirusuri Calicivirusuri
Sindrom dizenteriform Colită acută cu scaune mucosanguinolente-purulente; febră, deshidratare; reacție inflamatorie acută intensă în scaun	<i>Shigella</i> spp. ECEI <i>Campylobacter</i>	Unele tulpini de <i>Salmonella</i> netifoidice <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Entamoeba histolytica</i>
Gastroenterite febrile cu colici abdominale, reacție inflamatorie moderată în scaun	<i>Salmonella</i> netifoidice <i>Yersinia enterocolitica</i>	Unele patotipuri diareigene de <i>E. coli</i> (ECEP)
Diaree hemoragică eventual cu sindrom uremic hemolitic	ECEH	
Diareea febrilor enterice	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi, Paratyphi A, B, C	
Diaree sau enterocolită pseudomembranoasă post-antibiotică	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Toxiinfecție alimentară	vezi tabelul 49-1	

– La pacienți cu diaree ce persistă mai mult de o săptămână sau care prezintă reșute după 2-3 săptămâni.

Investigația bacteriologică dispune de:

– metode convenționale, respectiv izolarea și identificarea agentului etiologic bacterian prin cultură;

– metode neconvenționale, respectiv evidențierea agentului etiologic sau a structurilor sale prin metode imunologice (imunoenzimatică pentru depistarea enterotoxinelor citotoxice, a rotavirusurilor; latexaglutinarea și coaglutinarea pentru depistarea enterotoxinelor citotoxice; colorația imunofluorescentă pentru depistarea tulpinilor enteropatogene de *E. coli*). Metode genetice (recunoașterea agentului etiologic prin hibridarea acizilor nucleici după amplificarea genică) nu sunt încă posibile în practica diagnosticului.

Prelevarea și transportul probelor de materii fecale

Prelevarea corectă trebuie făcută cât mai aproape de debutul bolii și înaintea administrării terapiei antimicrobiene. Uzual examinăm probe de scaun eliminat spontan. La sugari, în investigații epidemiologice, este dificil de obținut probe în condiții satisfăcătoare și apelăm la prelevări pe tampon rectal sau cu sonda Nélaton din conținutul colonului sigmoid. De la cadavru examinăm conținut intestinal.

48.2.1. Prelevarea din scaun emis spontan. Pacientul defecă într-un container din carton sau material plastic de unică utilizare, care să poată fi decontaminat și îndepărtat cu ușurință

Examenul microbiologic în sindromul diareic infecțios

după efectuarea prelevării.

Prelevăm cu lingurița recoltorului fragmente mucosanguinopurulente, flocoane riziforme, dacă există, sau porțiuni din diferite puncte ale unui scaun omogen. Cantitatea prelevată, aproximativ 1 g, este suspensionată în mediul de transport Cary-Blair care asigură supraviețuirea enterobacteriilor patogene 24-48 ore, mai bine în condiții de refrigerare.

48.2.2. Prelevarea pe tampon rectal. Este recomandată în shigelozele cronice și la investigarea purtătorilor de *Shigella* și *Salmonella* cu excepția celor de bacili tifici. Introdu prin anus un tampon de vată steril montat pe tijă de lemn și șterge blând mucoasa rectală. Retrage și imersează imediat tamponul în mediul de transport. Retează tija tamponului pentru a închide recoltorul.

48.2.3. Prelevarea cu sonda. Sonda Nélaton, în prealabil dezinfectată prin fierbere, este introdusă prin orificiul anal în colonul sigmoid, 15-20 cm la adult și 10-12 cm la copil. Aspiră conținutul cu o seringă de 10 ml adaptată la capătul sondei. Descarcă imediat proba în mediul de transport.

Cererea de analiză trebuie să specifice grupul de bacterii pentru care este solicitată coprocultura și circumstanțele clinico-epidemiologice.

48.3. EXAMINAREA PROBELOR DE FECAL

Etiologia variată, virală, bacteriană, parazitară, presupune utilizarea concomitentă de metodologii diferite aplicate în același timp pentru același prelevat. În acest capitol este prezentată metodologia investigației bacteriologice.

48.3.1. Examenul macroscopic al scaunului emis spontan înregistrează:

– mirosul: fecaloid (shigeloze, salmoneloze, campilobacterioze), fetid (*V. cholerae*, *E. coli* enteropatogen).

– culoarea: verzuie, *V. cholerae*; hemoragică, galbenă necaracteristică (*E. coli*, *Salmonella*).

– aspectul – lichid ca „apa de orez”, *Vibrio*, *E. coli* enterotoxigenă; mucopulent, mucosanguinolent, *Shigella*; scaun înglobat în mucus, *Shigella*, *E. coli* enteroinvaziv; hemoragic, cu sau fără lambouri de mucoasă, *E. coli* enterohemoragică.

48.3.2. Microscopia include examinarea de preparate umede și/sau fixate și colorate. Prelevarea pe tampon rectal sau de pe pelinca sugarilor este mai puțin satisfăcătoare, deoarece adsorbția leucocitelor crește numărul rezultatelor fals negative.

Preparatul între lamă și lamelă. O ansă cu materii fecale (preferabil mucus, sânge) este suspensionată într-o picătură din soluția 1% de albastru de metilen pe o lamă de microscop, acoperită cu o lamelă și examinată cu obiectivul 10X pentru a repera ariile bine etalate și cu cel puțin 10 leucocite pe câmp și apoi cu obiectivul 40X pentru a diferenția corect PMN de macrofage :

– PMN $\geq$ 50/câmp alături de macrofage și hematii în shigeloze

– PMN $\leq$ 20/câmp în salmoneloze

– PMN $\leq$ 2-5/câmp în holeră, infecții cu ECET, viroze

– polimorfonucleare și hematii în campilobacterioze.

Frotiul colorat Gram evidențiază predominant bacterii gram-negative. Bacili fini, încurbați sau spiralați și floră normală redusă, la un pacient febril, are predicție pozitivă

satisfăcătoare pentru enterocolita cu *Campylobacter* (CD 12-1). Predominanța semnificativă a stafilococilor la un pacient aflat sub antibioticoterapie indică colita pseudomembranoasă.

48.3.3. Coprocultura este examenul de bază în diagnosticul sindromului diareic infecțios. Realizează izolarea și identificarea agentului etiologic bacterian pe baza caracterelor morfologice, de cultivare, exoenzimatic, antigenice. Pentru unele specii ubicuitare în microbiota colonului este necesară demonstrarea patotipului diareigen (ECEI, ECET etc.).

În diareile inflamatorii sunt vizate enterobacteriile patogene *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia* și condiționat patogene, *E. coli* enteroinvazivă. În diareile neinflamatorii urmărim prezența salmonelelor, yersiniilor sau a unor bacterii condiționat patogene cu capacități enterotoxigene *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, vibrioni NAG, iar, în conjunctură epidemică sau în zone portuare și *Vibrio cholerae*. Izolarea bacteriilor intestinale patogene se face pe medii selective adecvate. Patogenii intestinali pot fi diluați în masa fecală expuși concurenței vitale a bacteriilor asociate, iar la purtători eliminarea bacteriilor patogene poate fi intermitentă. De aceea trebuie ca în paralel probele să fie preincubate în medii de îmbogățire și să fie examinate probe repetate.

48.3.3.1. Izolarea bacteriilor aerobe

(1) *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*

Prima zi. Însămânțăm un tub cu mediu de îmbogățire și câte o placă cu mediu cu selectivitate joasă și mijlocie, pe care le incubăm la 37°C, 24 ore. Bulionul cu selenit acid de sodiu inhibă dezvoltarea bacteriilor gram-pozitive și limitează pentru 12-18 ore multiplicarea coliformilor și a speciilor de *Proteus*, favorizând multiplicarea salmonelelor și mai puțin a shigelelor.

Mediul MacConkey, cu selectivitate joasă prin sărurile biliare și diferențial prin lactoză, inhibă majoritatea bacteriilor gram-pozitive, permite creșterea tuturor enterobacteriaceelor (lacto-zo-pozitive și negative) și a altor grupe de bacili gram-negativi (*Vibrio*, *Pseudomonas* etc.).

Mediile cu selectivitate mijlocie inhibă considerabil enterobacteriaceele lacto-zo-pozitive, permit dezvoltarea enterobacteriaceelor lacto-zo-negative (*Salmonella*, *Shigella*, *Providencia*, *Proteus*, *Morganella*) și tardiv lacto-zo-pozitive (*Citrobacter*, *Serratia*, *Hafnia*): e.g., mediul ADCL-agar dezoxicolat, citrat, lactoză, Hektoen, agar-SS (*Salmonella-Shigella*). *Yersinia enterocolitica* se dezvoltă după prelungirea incubăției la 22°-29° C minim 24 ore.

A doua zi. Repicăm din mediul de îmbogățire pe mediu cu selectivitate medie. Incubăm pentru 24 ore la 37°C. Urmărim coloniile lacto-zo-negative a treia și a patra zi dacă din primocultură nu am izolat *Salmonella* sau *Shigella*.

Coloniile lacto-zo-negative prezente în primocultură pe mediile selective le repicăm pe mediile TSI și MIU/MILF pentru triajul biochimic și pe un mediu diferențial lactozat pentru verificarea purității culturii (Capitolul 11.1.). Repicăm:

- minim 3 colonii lacto-zo-negative din coprocultura unui copil. Dacă nu există colonii lacto-zo-negative repicăm minim 10 colonii lacto-zo-pozitive.
- minim 3-5 colonii lacto-zo-negative din coprocultura unui adult.
- în focarele epidemice de boală diareică repicăm minim 3 colonii lacto-zo-negative pentru o coprocultură. În absența coloniilor lacto-zo-negative repicăm minim 10 colonii lacto-zo-pozitive pentru identificare și testarea patogenității.

Mediile TSI și MIU/MILF le incubăm la 37°C pentru 24-48 ore.

A treia zi. Identificăm antigenic tulpinile pentru care testele de triaj sugerează *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*.

Examenul microbiologic în sindromul diareic infecțios

(2) *Vibrio cholerae*. Izolarea și identificarea sa este o urgență epidemiologică: flocoane riziforme din scaunul diareic le însămânțăm pe mediul selectiv BSA (agar cu săruri biliare și pH 8,4) și într-un tub cu mediu de îmbogățire (apă peptonată alcalină, pH 9,0) și incubăm la 37°C. După 10-12 ore pe suprafața mediului selectiv pot fi prezente colonii suspecte. Pentru 5 colonii efectuăm testul oxidazei; dacă este pozitiv, efectuăm aglutinarea pe lamă cu ser antiholeric O:1 diluat 1/100. Testul pozitiv este comunicat imediat; astfel un diagnostic preliminar de holeră (suficient în conjunctură epidemică) este stabilit în 24 de ore. Aglutinarea pe lamă va fi confirmată prin reacție de aglutinare la tub cu ser antiholeric diluat 1/1000 și identificarea serotipului.

Identificarea biochimică o confirmă pe cea antigenică.

Dacă primocultura rămâne negativă, urmărim repicajele făcute pe mediul selectiv la 4-6 ore (☞ Capitolul 12.1.).

(3) Izolarea fenotipurilor diareigene ale *E. coli*. Însămânțăm prelevatul pe mediu MacConkey sau pe mediu diferențial. Identificarea tulpinilor ECEP are valoare numai în episoadele epidemice de gastroenterite, frecvent infantile.

Prima zi. Epuizăm proba pe mediul MacConkey și incubăm la 37°C.

A doua zi. Aglutinăm pe lamă 10 colonii lactozo-pozitive. Colonia care a aglutinat o repicăm.

A treia zi continuăm identificarea subculturii pure, pe lamă și în tuburi, cu seruri monovalente.

Identificarea tulpinilor ECET. Accesibile laboratorului clinic sunt coaglutinarea și latexaglutinarea. Repicăm mai multe colonii pentru testarea enterotoxigenității.

Identificarea tulpinilor ECEI o realizăm antigenic și prin inoculare intraconjunctivală la cobai (testul Sereny, testul keratoconjunctivitei).

Identificarea tulpinilor ECEH este antigenică (☞ Capitolul 11.2.).

48.3.3.2. Izolarea bacteriilor microaerofile

Campylobacter jejuni și *C. coli* sunt izolați pe medii special îmbogățite și selective printr-o asociație de antibiotice. Plăcile sunt incubate la 42°C în condiții microaerofile (5% oxigen, 10% CO₂ și 85% azot). Identificarea izolatelor este realizată pe baza caracterelor de cultură, microscopice (CD 12-1), biochimice.

48.3.3.3. Izolarea bacteriilor anaerobe

Etiologia anaerobă este mai puțin cunoscută datorită dificultăților de cultivare. Izolarea anaerobilor din materii fecale se face cu și fără îmbogățire, utilizând ca medii selective agarul feniletilalcool și agarul cu gălbenuș de ou și neomicină.

Pentru *Clostridium difficile* este necesară probarea calităților toxigene (enterotoxina și citotoxina) și determinarea celor 2 toxine direct în materiile fecale, prin teste imunoenzimatiche sau pe culturi de celule.

„Să nu mănânce dintr-o vită moartă sau sfâșiată ca să nu se spurce cu ea. Eu sunt Domnul....

Vita să se mănânce în aceeași zi; nu lăsați nimic din ea până a doua zi dimineața. Eu sunt Domnul.”

MOISE Leviticul 22:8,30

Toxiinfecțiile alimentare sunt îmbolnăviri acute cu incubatie scurtă (1-48 ore), care apar mai frecvent epidemic, exploziv, după ingestia unui aliment în care anumite microorganisme s-au multiplicat și au elaborat toxine.

Agenții etiologici ai toxiinfecțiilor alimentare sunt grupați în funcție de sindromul clinic determinat, în tabelul 49-1.

49.1. PRELEVAREA, CONSERVAREA ȘI TRANSPORTUL PROBELOR

Într-o izbucnire de toxiinfecție alimentară microbiologul trebuie să furnizeze datele necesare pentru confirmarea prezumției și planificarea acțiunilor de combatere și profilaxie (confirmarea alimentului sau ingredientelor suspecte, precizarea sursei de infecție și a modalităților de contaminare a alimentului). Aceste obiective le realizează examinând probe:

- de la bolnavi (fecale, vomă, ser sanguin);
- de la martori, membri ai colectivității care nu s-au îmbolnăvit (fecale, tampon rectal, faringian);
- de la cadavru (conținut intestinal, sânge, țesut splenic, hepatic);
- de alimente;
- de la personalul implicat în manipularea și prepararea alimentelor (fecale, tampon rectal, nasal, din leziuni cutanate, tampon sau spălătura mâinilor);
- probe de mediu (tampoane de pe suprafețele de lucru din bucătării, recipiente, ustensile).

Tabelul 49-1 rezumă investigația de laborator a toxiinfecțiilor alimentare.

Probe de alimente. Alimentele mai probabil implicate ca vehicul al agentului etiologic sunt stabilite în cursul anchetei epidemiologice prin calcularea indicilor de atac epidemiologic pe categorii de alimente consumate și analiza lor corelativă (Cursul de Epidemiologie). Sunt vizate pentru calcularea indicelui de atac epidemiologic și examene de laborator alimentele și băuturile consumate în comun începând cu ultima masă până la 72 ore anterior debutului îmbolnăvirilor.

Frecvent se impune analiza microbiologică nu numai a preparatului alimentar incriminat, ci și a semipreparatelor și a ingredientelor folosite la preparare (carne, carne tocată,

Tabelul 49-1 Etiologia și investigația de laborator a toxiinfecțiilor alimentare

Sindrom/Etiologie	Incubația	Simptome și semne	Prelevate examinate ¹				Criterii de confirmare
			Aliment	Bolnavi	Manipulanți de alimente		
1	2	3	4	5	6	7	
Gastrointestinal superior							
<i>Bacillus cereus</i>	1-6 ore	Vărsături, uneori diaree	Cq	Vomă: C Fecale: C	Fecale: C Tampon rectal: C	$\geq 10^5$ UFC <i>B. cereus</i> /g aliment ² . <i>B. cereus</i> același serotip în aliment și în fecale la bolnavi sau în fecale la majoritatea bolnavilor, dar nu la martori.	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1-6 ore	Grefuri, vărsături, dureri abdominale, diaree, prostrație	Cq, T	Vomă: C Fecale: C	Fecale: C Tampon nazal: C leziuni cutanate: C mâini: C	Detectarea toxinei sau $\geq 10^5$ UFC <i>S. aureus</i> /g aliment ² . <i>S. aureus</i> același lizotip în vomă sau fecale la bolnavi, în aliment ² , în nas, leziuni cutanate sau pe mâini la cei care au manipulat alimentul.	
Gastrointestinal inferior							
<i>Clostridium perfringens</i>	9-15 ore	Dureri abdominale, diaree, eventual febră	Cq	Fecale: C, T Sânge: S	Fecale: C Tampon rectal: C	$\geq 10^5$ UFC <i>C. perfringens</i> /g aliment ² , $\geq 10^4$ UFC <i>C. perfringens</i> /g fecale la bolnavi (prezumpție); toxina prezentă în fecale (certitudine). Creștere $\geq 4X$ a titlului antitoxinei la bolnavi. <i>C. perfringens</i> același serotip în aliment ² și în fecale la bolnavi, dar nu la martori.	
<i>Escherichia coli</i> : ECET ECEI ECEH	6-36 ore	Sindrom holeriform/ Sindrom dizenteric/ Enterocolită hemoragică		Fecale: C	Fecale: C Tampon rectal: C	<i>E. coli</i> același serotip izolat din aliment ² și din fecale la bolnavi sau același serotip din fecale la majoritatea bolnavilor, dar nu la martori. Identificarea fenotipului diareigen.	

¹C = cultivare, Cq = izolare cantitativă, T = testări pentru toxină, S = examen serologic.² Alimentul incriminat prin cel mai mare indice de atac apidemiologic.

Prelevarea, conservarea și transportul probelor

<i>Salmonella</i>	6-48 ore	Febră, gastroenterită, bacteriemie posibilă la sugari, bătrâni și imunodepresati	C	Fecale: C Sânge ³ : C	Fecale: C Tampon rectal: C	<i>Salmonella</i> același serotip izolat din aliment ² și din fecale de la bolnavi
<i>Shigella</i>	12-50 ore	Sindrom dizenteric	C	Fecale: C Tampon rectal: C	Fecale: C Tampon rectal: C	<i>Shigella</i> același serotip în aliment ² și în fecale la bolnavi și personalul implicat în manipularea alimentului.
<i>Vibrio cholerae</i>	1-5 zile	Vărsături, diaree gravă afebrilă	C	Vomă: C Fecale: C Sânge: S		<i>V. cholerae</i> în aliment ² sau în prelevate de la bolnavi. Creștere $\geq 4X$ a titrului anticorpilor în convalescență.
Vibrioni non 0:1	24-72 ore	Sindrom holeriform		Vomă: C Fecale: C		Vibrioni non 0:1 din același serotip în aliment ² și în prelevate de la bolnavi.
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4-30 ore	Sindrom holeriform, eventual scaune cu sânge	Cq	Fecale: C	Fecale: C	$\geq 10^5$ UFC <i>V. parahaemolyticus</i> /g în aliment ² sau izolat din fecale de la majoritatea bolnavilor.
<i>Yersinia enterocolitica</i>	12-72 ⁴ ore	Gastroenterită, adenită mezenterică cu potențial bacteremic	C	Fecale: C Sânge: S		<i>Y. enterocolitica</i> același serotip în aliment ² sau izolat din fecale la majoritatea bolnavilor. Creșterea $\geq 4X$ a titrului anticorpilor după 2-4 săptămâni de la debutul bolii.
<i>Campylobacter</i> specii diareigene	12-72 ⁴ ore	Sindrom dizenteric, uneori diaree apoasă	C	Fecale: C Sânge: S		<i>Campylobacter</i> în fecale la majoritatea bolnavilor și în aliment ² . Creștere $\geq 4X$ a titrului anticorpilor după 2-4 săptămâni de la debutul bolii.

³ La sugari. ⁴ În medie 8-32 ore.

Tabelul 49-1 (continuare)

Sindrom/Etiologie	Incubația	Simptome și semne	Prelevate examinate ¹			Criterii de confirmare
			Aliment	Bolnavi	Manipulanți de alimente	
1	2	3	4	5	6	7
Neurologic						
<i>Clostridium botulinum</i>	2 ore 8 zile ⁶	Astenie, vertij, diplopie, pierderea reflexului la lumină, disfagie, dislalie, dispnee, uscăciunea gurii, constipație, paralizie respiratorie	C, T	Vomă: C, T Fecale: C, T Sânge: T		Consum de alimente conservate în casă (prezumpție). Depistarea toxinei în ser, fecale, aliment ²
Faringian						
Streptococi grup A, G	12-72 ore	Febră, angină, grețuri, vărsături; posibile complicații grave	C ⁶	Tampon faringian: C Sânge: C	Tampoane nasal: C faringian: C leziuni cutanate: C	Streptococi grup A, G din același serotip, <i>S. zooepidemicus</i> în faringele bolnavilor și în aliment ²
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>		infecțioase și postinfecțioase				

⁵ În medie 12-72 ore.⁶ Izolarea *S. zooepidemicus* impune investigații epidemiologice în fermele furnizoare de lapte.

lapte etc.). Aceasta poate extinde sfera investigațiilor de la bucătărie la unitățile comerțului alimentar cu amănuntul, *en gros* sau până la fermele furnizoare.

O anumită metodă de conservare nu scoate din cauză în mod necesar un aliment. Așa, alimentele congelate păstrează condiția microbiologică anterioară congelării (care a putut fi necorespunzătoare). Căldura nu penetrează frecvent în măsură suficientă centrul bucăților mari de carne, al straturilor groase de carne tocată, mai ales în cuptoarele casnice. Dacă la suprafața unei bucăți de carne, cârnați sau ou temperatura este de 100°C, în interior ea poate rămâne în jur de 60°C, insuficientă pentru a omorî *S. aureus* și cu atât mai puțin bacili toxigeni sporulați.

Cantități de cca 200 g alimente asigură efectuarea tuturor examenelor bacteriologice și toxicologice necesare.

Din carne și preparate de carne trebuie prelevate tranșe care interesează bucata de la suprafață până în centru sau, după caz, până la os (unde *Clostridium botulinum* găsește condiții favorabile de multiplicare). Prelevarea trebuie să intereseze și zonele cu început de proteoliză, marcat prin modificări de culoare (înverzire etc.). Când tranșarea nu este posibilă (carcase mari, bucăți congelate) prelevarea se face cu foreza sau prin așchiere cu dalta și ciocanul sterile. De pe suprafața carcaselor necongelate se fac prelevări prin ștergere cu tamponul sau cu bucăți de tifon sterile, care se introduc în recipiente cu mediu de transport.

Din ambalajele cu praf de lapte, ouă, cereale se fac prelevări cu sonda tubulară de la extremitatea unui diametru spre profunzime.

Proble de alimente congelate se expediază în stare congelată, cele deshidratate se închid ermetic pentru a le feri de umezeală. Restul probelor se expediază refrigerate în baie de gheață alimentară.

Toate probele sunt marcate pentru identificarea corectă. Laboratorul trebuie informat cu privire la:

- Ora prelevării, temperatura alimentului în momentul prelevării, intervalul de timp dintre consumul alimentului și momentul prelevării. Valoarea izolării cantitative a bacteriilor din aliment, examen relativ simplu, accesibil pentru diagnosticul unor toxiinfecții alimentare, depinde în întregime de păstrarea nealterată a condiției microbiologice a alimentului din momentul consumului. Reamintim că timpul de generație al *Bacillus cereus* la 37°C este de cca 9 minute. Deci în anotimpul călduros, fără măsuri exigente de refrigerare, cantitatea acestei bacterii se dublează la intervale mai mici de o oră.

- Sindromul clinic prezentat de pacienți: incubatia medie, febră, vomă, diaree, semne neurologice etc. În cererea de analiză trebuie precizate explicit: etiologiile suspectate pe baza sindromului clinic și indicelui de atac epidemiologic prin aliment.

49.2. EXAMINAREA PROBELOR

Examenul microbiologic trebuie să înceapă imediat după recepționarea probelor în laborator. După reținerea aseptică din recipient a cantității necesare examinării, probele trebuie conservate în continuare în condițiile precizate mai sus.

Microscopia. Absența, prezența și tipul reacției inflamatorii în scaun completează datele care orientează investigația microbiologică (tabelul 49-2).

Efectuăm frotiuri și din probele de aliment omogenizate (înainte de a le dilua). Frotiul colorat Gram indică orientativ concentrația realizată de o bacterie dintr-o anumită categorie microscopică în aliment.

Investigația etiologică în toxiinfecțiile alimentare

Tabelul 49-2 Orientarea investigației într-o izbucnire de toxiinfecție alimentară pe baza reacției inflamatorii din scaun

Microscopia	Leucocite absente	≥ 20 PMN/câmp la mărire de 100 X	Leucocite mononucleare
Etiologii posibile	<i>E. coli</i> (ECET) (ECEH) <i>V. cholerae</i> Vibrioni non 0:1 <i>Salmonella</i> <i>S. aureus</i> <i>B. cereus</i> <i>C. perfringens</i>	<i>Shigella</i> <i>E. coli</i> (ECEI) <i>Salmonella</i> <i>Campylobacter</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

Însămânțarea. Izolarea din prelevate de la bolnavi sau purtători a patogenilor implicați în toxiinfecții alimentare o facem pe medii selective și de îmbogățire convenabile fiecărei specii.

Izolarea din aliment:

- pentru unii patogeni (ca *Salmonella*, *Shigella*, *V. cholerae*, *C. botulinum*) o facem calitativ pe medii selective și prin proceduri de îmbogățire (când acestea există);
- pentru alți patogeni (ca *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus*, *C. perfringens*, *Vibrio parahaemolyticus*) trebuie să fie cantitativă.

DUMITRU T. BUIUC, ANA VORNICU

„Dacă aș avea onoarea să fiu chirurg pătruns cum sunt de pericolele la care ne expun germenii microbieni, răspândiți pe suprafața tuturor obiectelor în spitale, nu numai că aș respecta o curățenie perfectă, dar după ce mi-aș spăla mâinile cu cea mai mare băgare de seamă și după ce le-aș supune unui flambaj rapid... nu aș întrebuința decât vată, pansamente și bureți ținuți în prealabil la o temperatură de 130-150° C și n-aș folosi decât apa care a trecut printr-o temperatură de 110-120° C.”

LOUIS PASTEUR

Antibioticele, un panaceu? Prin victoriile de ieri la problemele de azi.

50.1. DEFINIȚII

Infecția nosocomială este o infecție interioară, încrucișată (☞ Subcapitolul 6.4.5.) contractată în cursul actului explorator sau terapeutic din ambientul specific unui spital, serviciu de urgențe sau ambulator.

Infecția nosocomială ne-a confruntat, ne confruntă și ne va confrunta în toate epocile de evoluție ale chirurgiei și medicinei. Ceea ce diferă de la o epocă la alta sunt morbiditatea, mortalitatea, spectrul etiologic, posibilitățile terapiei etiotrope și profilaxiei (tabelul 50-1). **Epoca de evoluție a medicinei și chirurgiei trebuie înțeleasă nu temporal *sensu stricto*, ci conceptual sub raportul competenței personalului, a dotărilor și facilităților din spitale.** În același moment un spital poate activa conform epocii contemporane, iar altul într-o epocă anterioară. Cel mai grav este amestecul unora dintre cele mai avansate posibilități exploratorii și terapeutice cu facilități și deprinderi anacronice, ale unor epoci depășite.

50.1.1. Infecția nosocomială este contractată într-o unitate de asistență sanitară

Sunt excluse infecțiile sporadice, individuale, cu debut în spital, dar contractate în colectivitatea generală. Infecții contractate în spitale ori ambulatoriu pot debuta la domiciliu.

Două exemple sunt tipice:

(i) Unele mame fac mastită stafilococică după externarea din maternitate. Deși manifestă la domiciliu, aceasta este o infecție nosocomială pentru că este transmisă mamei de nou-născutul cu nările și orofaringele colonizate de stafilococi cu care s-a contaminat în maternitate.

(ii) Hepatita cu virus B (eventual asociat cu D) sau C este mai frecvent nosocomială, dar, având incubanța până la câteva luni, debutează la domiciliu.

Personalul unităților sanitare poate contracta infecții nosocomiale.

Infecția nosocomială se extinde uneori în colectivitatea generală și impune investigarea și combaterea în ambele colectivități.

50.1.2. Infecția nosocomială este contractată în condițiile de mediu specifice unităților sanitare

Aceste condiții ambientale sumează factori biologici, fizici și chimici în interdependență.

Infecția nosocomială

Tabelul 50-1 Evoluția infecției nosocomiale: epoci și particularități, concepte și rezultate

Epoca prepasteuriană

Particularități: Lipsa informațiilor privind etiologia. Morbiditatea și mortalitatea au crescut exploziv prin dezvoltarea chirurgiei, beneficiară, din 1846, a anesteziei generale cu eter. Lipsa terapiei etiotrope. Obstacol în calea unei noi dezvoltări a chirurgiei. Primele principii de profilaxie cu succese limitate.

Sec. IV, SF. VASILE, episcop de Caesarea.	Înființează primele spitale; condiții pentru infecții încrucișate.
Sec. XVIII	Separarea spitalelor pentru bolnavii febrili de cele generale. Lipsește argumentarea statistică a utilității.
1840' O.W. HOLMES, Boston	Combaterea febrei puerperale în maternități prin circuite separate pentru instrumentarul destinat consultului lehzelor sănătoase, bolnavelor și necropsiilor; spălarea și antiseptizarea mâinilor. Succese limitate.
1850' I.F. SEMMELWEIS, Viena	
1863 FLORENCE NIGHTINGALE	Bazătă pe experiența medicinei de campanie din Războiul Crimeei, publică <i>Notes on Hospital</i> , care cuprinde concepte de arhitectură, dotări și funcționare ale spitalelor.
1860'	Mortalitatea prin infecții nosocomiale atinge valori maxime: 25-40% la copii; cca. 60% la amputați și la lehuze.

Epoca pasteuriană

Particularități: Acumularea datelor privind etiologia. Lipsa terapiei etiotrope. Prevenția eficientizată prin chirurgia antiseptică și aseptică reduce morbiditatea și mortalitatea la cele mai scăzute cote. Patogenii predominanți în infecțiile arsurilor și plăgilor postoperatorii: *Streptococcus pyogenes* urmat de *Staphylococcus aureus*. Noul avânt al chirurgiei.

1867 J. LISTER	Chirurgia antiseptică.
1894 von BERGMAN	Chirurgia aseptică.
1913 W.S. HALSTED	Mănușile chirurgicale
1929 C. DUKES	Cateterul à demeure și infectarea vezicii urinare. Conceptul de infectare prin act explorator și terapeutic paleativ invaziv.
1939-1945 Războiul Mondial	În spitalele de campanie, incidența crescută a infectării marilor plăgi deschise conturează conceptul de mare receptivitate la infecția nosocomială.

Epoca antibioticelor

Particularități: posibilitatea tratamentului antibacterian. *Streptococcus pyogenes* devine cauză rară a infecției nosocomiale. Diversificarea și amploarea investigațiilor agresive (puncții, cateterisme etc.) și terapiilor, inclusiv paleative, agresive (medicație injectată, perfuzată, alimentație intravenoasă, variate catetere à demeure; dezvoltarea chirurgiei convenționale), manipularea sistemului imun (imunodepresie, imunosupresie) și chirurgia de transplant. Amplificarea fondului de gazde imunocompromise (iatrogen sau prin infecție cu virusul imunodeficienței umane) crește incidența infecțiilor cu cele mai variate microorganisme oportuniste.

1929 A. FLEMING	Descoperă penicilina (Premiul Nobel pentru Medicină, 1945)
-----------------	--

Tabelul 50-1 (continuare)

1932 GERHARD DOMAGK	Testează acțiunea antibacteriană a prontosilului roșu, începe sinteza sulfamidelor (Premiul Nobel pentru Medicină, 1939)
1940 H.W. FLOREY, E.B. CHAIN	Purificarea și tehnologia fabricării penicilinei (Premiul Nobel pentru Medicină, 1945)
1943 S.A. WAKSMAN	Descoperă streptomycină (Premiul Nobel pentru Medicină, 1952)
1963 T. WATANABE	Sinteza primelor studii (1959-1962) privind rezistența transferabilă la antibiotice – factorul R.
1967 CHRISTIAN BARNARD	Primul transplant cardiac.
1980'	Emergența SIDA.

Spre o epocă postantibiotică?

Particularități: Infecția nosocomială va persista cât și spitalele. Apar primele tulpini bacteriene rezistente la toate antibioticele. Primele succese ale unor programe naționale de profilaxie a infecțiilor nosocomiale în țări dezvoltate. Până la ce limită poate coborî prevalența infecției nosocomiale?

1967	Fondul plasmidic de rezistență al enterobacteriaceelor comensale începe să răspândească rezistență la antibiotice printre bacterii patogene. Bacilii gram-negativi devin cea mai frecventă cauză a infecției nosocomiale.
1980'	Fonduri genice de rezistență non- β -lactamazică și multirezistență în populații de streptococi orali și stafilococi. Cocii gram-pozitivi trec pe primul loc în etiologia infecțiilor nosocomiale.
1987 N.P.C. NOLAN și colab.	Primele izbucniri epidemice de spital ale enterocolitei pseudomembranoase postantibiotice. <i>Clostridium difficile</i> devine prezență semnificativă în fondul bacterian de spital.
1989 R.C. GEORGE și colab.	Prima manifestare epidemică de infecție nosocomială cu enterococi rezistenți la toate antibioticele.
1990 F.W. GOLDSTEIN și colab.	Primele tulpini de stafilococi coagulazo-negativi rezistente la metilicină și intermediar rezistente la vancomicină.
1993 C.M. KUNIN 1994 A.TOMASZ	Avertizează: sfârșitul erei antibioticelor se apropie.
După 1992	Tendință de scădere a prevalenței infecției nosocomiale urmare a unor programe naționale de profilaxie în unele țări dezvoltate economic. A fost atins „minimul ireductibil”?

50.1.2.1. Fondul microbial de spital cuprinde microbiota indigenă a pacienților, personalului sanitar, eventualelor rozătoare și insecte; microorganismele infectante ale pacienților, și, eventual, personalului; microorganismele din aer, apă, alimente, de pe orice suprafață, instalații, obiecte, instrumentar sau medicamente. Operațional, în fondul microbial de spital putem delimita următoarele categorii de microorganisme:

(1) Organisme ale microbiotei indigene cu avantaje selective particulare în mediul de spital.

Infecția nosocomială

(2) Organisme al căror rezervor este în anumite instalații de spital și pot suferi presiuni selective particulare spitalului.

(3) Organisme al căror rezervor este amplificat prin inoculări cu instrumentar contaminat cu sânge ori prin transfuzii sau derivate de sânge.

(4) Organisme anaerobe nesporulate ale microbiotei indigene.

(5) Organisme accidental patogene ale mediului extern ocazional prezente în microbiota flotantă a învelișurilor.

(6) Organisme patogene clasice.

(7) Prionii ca agenți pseudoinfecțioși.

Concentrarea în secții specializate a pacienților cu receptivități particulare la infecție, expuși mai frecvent aceluiași riscuri de transmisie a infecției, creează nișe ecologice particulare pentru anumiți patogeni de spital (e.g., secții de urologie, de pediatrie, de terapie intensivă). Asemenea nișe ecologice sunt create și în unitățile ambulatorii (e.g., cabinete de stomatologie, unități pentru urgențe).

50.1.2.2. Facilități de transmitere a infecției în spitale. Condițiile de risc ale contaminării microbiene în practica medicală și chirurgicală le împărțim în critice, semicritice și necritice.

(1) **Condițiile critice**, în care sterilizarea este indispensabilă, includ instrumentele care pătrund în țesuturi și mediul intern (instrumente chirurgicale, seringi, catetere vasculare etc.); materiale care realizează contacte cu țesuturile sau există riscul de a-l realiza (mănuși chirurgicale, materiale de sutură, câmpuri operatorii etc.); medicamente injectabile sau perfuzabile. Măinile chirurgului și spălarea chirurgicală a mâinilor trebuie considerate de asemenea în această categorie.

(2) **Condiții semicritice**, în care sterilizarea este de dorit, dar riscul infecției poate fi prevenit prin dezinfecție eficientă: instrumentarul care vine în contact cu mucoasele (orice tip de speculum, endoscoape, sonde, termometre ș.a.); aparatura pentru respirație asistată și aspirație endotraheală, vesela, materialele contaminate cu prelevate patologice ș.a. În aceeași categorie de risc includem alimentele și mâinile personalului implicat în manipularea lor.

(3) **Condiții necritice**, în care sunt suficiente dezinfecția, antiseptizarea sau decontaminarea prin spălare: instrumente și obiecte care realizează contacte numai cu tegumentul pacienților (stetoscop, electrozi, instalații tehnico-sanitare, lenjerie ș.a.); mâinile personalului sanitar, ale mamelor în maternități și unități pediatrice și spălarea medicală a mâinilor trebuie avute în vedere.

Pericolul mâinilor ca vehicul al infecției nosocomiale a fost demonstrat printr-un studiu în clinici americane de pediatrie. Rezistența la antibiotice în fondul bacterian al unei secții a variat direct proporțional cu numărul de copii care reveneau per infirmieră. Deci, considerând competența și conștiința profesională ideale, trebuie acordat infirmierelor și personalului mediu timpul necesar spălării corecte a mâinilor prin optimizarea numărului de pacienți îngrijiți.

Nu putem scădea sub o anumită limită incidența infecției nosocomiale fără a scădea numărul pacienților per WC, urinoar, lavoar; fără igienizarea, dezinfecția curentă și revizii periodice ale funcționării acestor instalații pentru a evita umezirea permanentă a dușumelelor.

50.1.2.3. Presiuni selective asupra fondului microbial de spital. Substanțele antimicrobiene constant utilizate în spitale (antibiotice, antiseptice, dezinfectante) și frecventul pasaj interuman, inerent unei colectivități închise, au selectat **tulpinile bacteriene periculoase de spital** caracterizate prin rezistență multiplă la substanțe antimicrobiene, capacități sporite de colonizare rapidă a suprafețelor și virulență. Cele mai periculoase tulpini de spital sunt selectate dintre bacilii coliformi, pseudomonade și alți bacili gram-negativi care supraviețuiesc și se multiplică la temperatura camerei sau în frigider în medii apoase minimale nutritiv, chiar

în prezența substanțelor antibacteriene; dintre stafilococi și enterococi, organisme multiplu rezistente la antibiotice și rezistente la desicare.

Mare risc pentru amplificarea fondului de tulpini bacteriene periculoase în spital prezintă utilizarea incorectă a dezinfectantelor și antisepticelor în soluțiile lor de lucru: *utilizarea mai mult de 24 de ore a soluției odată preparate; neglijarea spălării și sterilizării recipientelor în care sunt utilizate*. Fără aceste precauții variantele bacteriene rezistente rămase în recipiente se vor înmulți progresiv și vor crea clone rezistente. Periodic trebuie testată eficiența dezinfectantelor și antisepticelor utilizate în spital. Pericolele care decurg din utilizarea nediscriminatorie a antibioticelor au fost prezentate deja (☞ Capitolul 7.3.).

50.1.2.4. Colonizarea versus infecția nosocomială; amplificarea anumitor virusuri în fondul microbial de spital. Tulpinile bacteriene periculoase de spital realizează primar o **colonizare nosocomială** a pacienților și personalului, care începe odată cu conviețuirea în spital. Dacă persoana colonizată nosocomial nu devine necesar și infectată, ea este întotdeauna rezervor pentru colonizare și infecție nosocomială. **Deci infecția cu tulpini bacteriene periculoase de spital apare pe fondul mult mai larg al colonizării nosocomiale**, de unde metafora: „*Fenomenul aisberg al infecției nosocomiale*” (fig.50-1). Dar există și altă metaforă: „*Cu fiecare pacient internăm un cal troian*”. Sensul acestei a doua metafore vizează nu numai tulpinile bacteriene periculoase de spital, ci și virusuri al căror fond este amplificat prin utilizarea de instrumentar contaminat cu sânge sau prin transfuzii. Un pacient transferat dintr-o secție în alta, dintr-un spital în altul sau cu repetate spitalizări este un „cal troian” periculos pentru că este deja colonizat nosocomial sau/și rezervor de infecție cu virusurile hepatitei ori HIV; tot așa pacienții hemofilici, agamaglobulinemici care primesc repetate transfuzii de sânge ori plasmă și dializații renal.

50.1.3. Infecția nosocomială este contractată în condițiile actului explorator sau terapeutic

Investigațiile clinice și paraclinice sau terapia acoperă o gamă de riscuri pentru contractarea infecției de la cele necritice la cele semicritice sau critice. Un sinonim sugestiv pentru condițiile critice este cel de investigație sau terapie invazivă, invazivă sau agresivă în sensul penetrării barierelor antiinfecțioase naturale. Metodele medicinei și chirurgiei au devenit tot mai agresive: de la simple punctii la perfuzii; de la simple cateterisme la cele *à demeure*, de la clasicele incizii la intervenții chirurgicale laborioase; de la medicația cu acțiuni farmacodinamice limitate la medicația imunosupresivă.

Diversificarea receptivității la infecție prin bolile de fond și țesuturile afectate prin variatele acte medicale ori chirurgicale invazive se reflectă nemijlocit în diversitatea etiologică actuală a infecțiilor nosocomiale.

50.2. ETIOLOGIA INFECȚIILOR NOSOCOMIALE

50.2.1. Bacterii cu avantaje selective particulare în mediul de spital

În această categorie reținem: stafilococii, enterococii, bacilii coliformi, pseudomonadele și, în ultimii ani, *C. difficile*. Prezente în cantități considerabile în microbiota normală sau disbiotică a organismului, le eliminăm masiv în mediul extern unde supraviețuiesc virulente, iar unele se și multiplică.

(1) **Stafilococii** trebuie să-i vedem în primul rând asociați epidermei, nărilor, dejectelor, norului de scuame pe care îl generăm permanent, lenjeriei, așternutului, mâinilor ș.a. Desicați, rămân virulenți până la trei luni. *Staphylococcus aureus* a fost probabil întotdeauna cauză

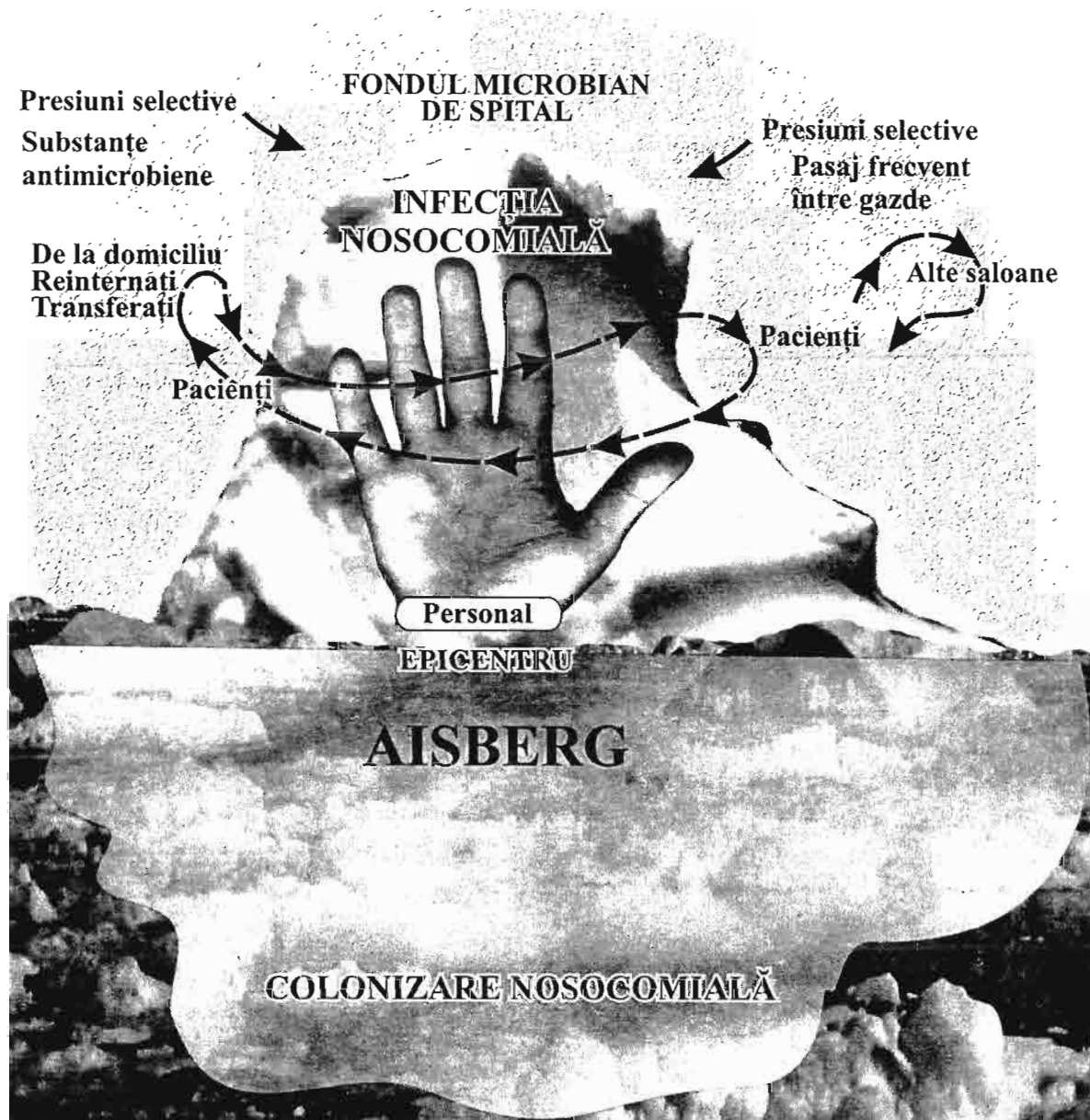


Fig. 50-1 Infecția nosocomială: fenomenul aisberg (colonizarea *versus* infecția nosocomială), presiunile selectivă exercitate asupra fondului microbian de spital cu selectarea tulpinilor bacteriene periculoase de spital; rolul mâinilor în transmiterea infecției nosocomiale (vezi textul)

importantă a infecției nosocomiale, dar în era antibioticelor ocupă, la concurență cu bacilii gram-negativi, primele locuri. Stafilococii coagulazo-negativi au devenit cauze semnificative de infecții nosocomiale odată cu cateterele intravenoase *à demeure*, practica dializei peritoneale, dezvoltarea chirurgiei cardiace și a protezelor tisulare.

După ce în anii 1960 *S. aureus* a cedat locul bacililor gram-negativi în etiologia infecțiilor nosocomiale, la sfârșitul anilor 1970 a revenit pe primul loc odată cu răspândirea tulpinilor meticilino-rezistente (SARM), care sunt sensibile numai la vancomicină. Dar tulpini SARM intermediar sensibile la vancomicină sunt deja cunoscute. Mupirocina este antibioticul de elecție pentru eradicarea, prin aplicații topice, a portajului nasal de SARM, dar deja peste 11% dintre tulpini au devenit rezistente în spitalele unde este utilizată. Rezistența la meticilină

s-a extins și la stafilococii coagulazo-negativi.

(2) **Enterococii** au devenit agenți importanți ai infecției de spital prin apariția tulpinilor de *E. faecium* și *E. faecalis* cu rezistență de nivel înalt la β -lactamine și aminoglicozide, ceea ce face inefficientă clasică asociație a acestor două categorii de antibiotice. Progresiv, enterococii au devenit rezistenți la singurele antibiotice de rezervă: vancomicina (din 1989) și asociația quinupristină-dalfopristină (din 1997). Tulpini de enterococi total rezistenți la antibiotice sunt semnalate tot mai frecvent în servicii de oncologie, nefrologie, transplant și terapie intensivă.

(3) **Bacili coliformi** au dezvoltat multirezistență la antibiotice încă din anii 1960. Au un important fond de rezistență plasmidică de care beneficiază și alți patogeni. Ca și pseudomonadele, au avantaje selective în medii apoase minimale nutritiv unde se pot înmulți, chiar în prezența substanțelor antibacteriene, la temperatura camerei. Contaminează masiv mediul prin excrete și îi izolăm de pe instalațiile tehnico-sanitare, suprafețele umede din WC-te și băi. Contaminează periculos lenjeria și așternutul.

Escherichia coli este una din speciile cel mai frecvent implicate în infecțiile de spital (infecții urinare primare, infecții peritoneale mixte după plăgi intestinale, bacteriemii etc.). Dar, cu excepția patotipurilor diareigene, infecțiile sunt uzual sporadice și endogene.

Klebsiella, *Enterobacter*, *Serratia* spp. determină izbucniri epidemice de infecții bacteriemice, urinare, respiratorii în serviciile de terapie intensivă. Sunt cauze ale șocului endotoxinic după perfuzii cu soluții contaminate. Nou-născuții și sugarii sunt deosebit de receptivi.

Salmonellele au fost semnalate nu numai în infecțiile transmise prin alimente, ci și în meningite postoperatorii.

(4) **Pseudomonadele** ating concentrații considerabile în microbiota indigenă disbiotică și se elimină cu excretele, secrețiile și exsudatele. Cresc în rezervoare de apă (chiar în apa distilată), ca și în soluții de clorhexidină ori compuși de amoniu quaternar, în instalații pentru gheață, în soluții medicamentoase cu administrare repetată din același flacon ori sânge conservate la frigider, în ape de gură, în ghivece și vase cu flori. Datorită multiplelor vehicule pot cauza infecții după intervenții chirurgicale majore, infecții ale arsurilor, șoc endotoxinic după perfuzia de soluții contaminate, infecții neonatale, infecții respiratorii în serviciile de terapie intensivă. Din acest grup bacterian bacilul piocianic este cel mai frecvent izolat. Pseudomonade ocazional implicate sunt: *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*.

(5) **Alți bacili gram-negativi** remarcabili prin rezistența la antibiotice sunt: *Alcaligenes faecalis*, *A. xylooxidans*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Acinetobacter* spp. (mai frecvent *A. baumannii*).

(6) ***Clostridium difficile***, frecvent prezent în microbiota colonului, a determinat în spitalele din Anglia de 10 ori mai multe enterocolite pseudomembranoase post-antibiotico-terapie orală cu spectru larg (chiar episoade epidemice) în ultimul deceniu față de cele anterioare. Transmiterea este fecal-orală. Boala are evoluție gravă la vârsta peste 60 ani și a împătrit costul spitalizării.

50.2.2. Microorganisme cu sursă în rezervoare de apă sau instalații cu apă stagnantă

În afară de pseudomonade (prezentate mai sus), mai sunt implicate *Legionella* și micobacterii atipice, rar *Aeromonas hydrophila*.

(1) *Legionella* spp. au capacități adezive la cele mai variate suprafețe. Simbioza cu ciano-și flavobacteriile, endosimbioza cu protozoare și chiștii acestora le conferă avantaje selective în rezervoarele de apă și termorezistență la peste 60°C, ca și față de agenții biocizi pentru

Infecția nosocomială

tratarea apei. Sunt implicate în infecții respiratorii și ale plăgilor, inclusiv chirurgicale.

(2) Micobacteriile atipice multiplică în sursele de apă și rezistente la procedurile obișnuite de dezinfecție (*M. chelonae*, *M. gordonae*, *M. fortuitum*) au fost la originea unor infecții la dializații renali, infecții după bronhoscopii, chirurgie oculară, cardiacă ori după hidroterapie.

50.2.3. Microorganisme al căror rezervor este amplificat prin transfuzii și inoculări cu instrumentar contaminat cu sânge

Sângele vehiculează concentrații impresionante de virus al hepatitei B (cca 10^6 – 10^9 doze infectante/mL) și D (cca 10^{10} – 10^{12} doze infectante/mL), iar concentrația HIV este suficient de mare, încât aceste virusuri sunt transmise nu numai prin transfuzii sau medicație cu derivate de sânge, ci și prin penetrarea în țesuturi ori sânge a instrumentelor contaminate cu *urme de sânge* și insuficient sterilizate. Numărul dozelor infectante ale virusului hepatitei C realizat în sânge este de ordinul a 10^5 /mL, încât acest virus este transmis cel mai frecvent prin transfuzii.

50.2.4. Microorganisme anaerobe nesporulate

Aceste organisme domină microbiota indigenă în proporție de 99%, dar, datorită sensibilității deosebite în mediul extern, sunt implicate numai în infecții nosocomiale sporadice, endogene. Factorii de risc sunt: plăgi operatorii în situsuri care comunică cu cavități masiv colonizate cu aceste bacterii, plăgi în țesuturi cu vascularizație dezorganizată, neoplaziile, infecția mixtă cu bacterii aerobe. Riscul crește când aceste condiții apar pe fondul antibioterapiei inactivate asupra anaerobilor (aminoglicozide) sau puțin active (fluorochinolone).

50.2.5. Levuri, mucegaiuri ori protozoare accidental patogene din microbiota rezidentă ori flotantă sau mediul extern

Candida albicans poate determina infecții nosocomiale endogene, mai ales în condițiile antibioticoterapiei orale cu spectru larg. Alte specii, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, au fost ocazional semnalate; uneori ca ciorchini epidemici după canulare intravasculară ori operații pe cord deschis.

Infecțiile nosocomiale cu *Fusarium* spp. ori *Trichosporon beigelii* sunt semnalate la cancerosi ori receptorii transplantului de măduvă osoasă. Infecții legate de creșterea explozivă a concentrației sporilor de *Aspergillus* apar în secțiile de terapie intensivă și la neutropenici.

Coccidiile sunt protozoare transmise fecal-oral și determină diaree cronică debilitantă la imunosupresați spitalizați. Oochiștii lor, foarte rezistenți, favorizează transmiterea prin elemente de mediu contaminate.

50.2.6. Microorganisme clasice patogene

Dacă infecțiile de spital cu *S. pyogenes* ori *M. tuberculosis* au devenit rarități în țările dezvoltate, oricând pot reveni odată cu dezorganizări socio-economice. În condițiile pandemiei de SIDA, trebuie acordată atenție recunoașterii precoce a bolii de fond și tuberculozei asociate, pentru că acești pacienți sunt înalt contagioși. Evoluția ascendentă a multirezistenței bacililor tuberculozei la chimioterapice pune accente noi în prevenția tuberculozei nosocomiale.

Prevalența multor viroze nosocomiale este subestimată pentru că facilitățile diagnostice sunt limitate, iar atenția concentrată pe bacterioze și micoze. Dar virozele nosocomiale sunt

importante la nou-născuți, pacienți pediatrici și imunosupresați. Trebuie avute în vedere infecțiile cu virusuri diareigene, virusul respirator sincițial, enterovirusuri.

Dintre herpesvirusuri, infecții nosocomiale grave determină virusul citomegalic, prin donare de sânge sau țesuturi infectate.

Gripa cu virus A contractată în spital evoluează cu diferite sindroame, dar grav este sindromul pneumonic, atât *per se*, cât și din cauza suprainfecțiilor cu tulpini bacteriene de spital (e.g., *S. aureus*). Bolile eruptive ale copilăriei pot evolua ca episoade epidemice de spital.

50.2.7. Pseudoinfecțiile prionice

Boala Creutzfeld-Jacob (posibil și alte sindroame) ridică dificile probleme de înregistrare corectă și prevenție din cauza perioadei lungi de incubație, absenței posibilităților de diagnostic *intravital* și dificultăților deosebite de sterilizare a instrumentarului contaminat cu prioni. Problema trebuie avută în vedere și din cauza panzootiei de boală a vacii nebune, transmisibilă la om cu difuzare ulterioară interumană.

GLOSAR

A

Abces (lat. *ab* îndepărtat de; *cedere* a trece, a se duce). Colecție de puroi limitată de țesuturile vecine printr-o membrană de țesut inflamator.

A-B toxină. Exotoxină formată din două tipuri de polipeptide: B cu funcție de ligand la receptori specifici de pe membrana celulelor eucariote și A care, după endocitare, acționează frecvent ca ADP-riboziltransferază. Specificitatea efectului acestor toxine apare dublu condiționată: prin receptorul celulelor pentru complexul toxic și prin ținta moleculară pe care este transferat restul ADP-riboză.

Acetilcolină (lat. *acetum* oțet; gr. *hyle* materie; *khole*, bilă). Neuromediator prezent în sistemul nervos central și cel periferic, eliberat la nivelul sinapselor colinergice.

Acid clavulanic. β -lactamină, puternic inhibitor al β -lactamazelor.

Acid fusidic. Antibiotic cu structură steroidiană. Inhibă sinteza proteinelor prin formarea unui complex stabil cu factorul de elongație G.

Acid N-acetil muramic $\Rightarrow$ N-acetil glucozamină.

Acid sialic. Carbohidrat cu 9 atomi de carbon ubicuitar în glicolipidele și glicoproteinele celulare ale mamiferelor și în mucus.

Acidofil (lat. *acidus* acru; gr. *philos* prieten). Bacterie care crește preferențial la pH scăzut (< 4-5).

Aclorhidrie. Scădere sau supresie a secreției de acid clorhidric, care are ca efect creșterea pH-ului sucului gastric.

Actinomicete (gr. *aktis* rază; *myketos* ciupercă). Clasă de bacterii filamentoase considerate mult timp fungi datorită asemănării filamentului lor cu un miceliu.

Activă, imunizare (lat. *activus* care acționează; *immunis*, scutit, apărut). Dobândirea imunității de către un organism: **1.** natural, după trecerea prin boală; **2.** artificial, prin vaccinare.

Acut (lat. *acutus* ascuțit). **1.** Referitor la evoluția rapidă și scurtă a unei afecțiuni. **2.** O durere vie, intensă, în raport cu una surdă.

ADCC $\Rightarrow$ Citotoxicitate mediată celular anticorp dependentă

Adenilat ciclază. Enzimă asociată biomembranei, care modulează producerea mesagerului secund AMPc din ATP. Constituent important al unor căi de semnalizare intercelulară. Cuplarea sa la complexul ligand-receptor se efectuează prin intermediul proteinelor G, care o pot stimula (Gs) sau frâna (Gi).

Adenită (gr. *aden*, glandă; *-ită*, inflamație). Inflamație ganglionară.

ADP (adenozin difosfat). Substanța rezultată în urma scindării ATP cu eliberarea energiei.

ADP-riboziltransferază $\Rightarrow$ A-B toxină

Adezine (lat. *adhaesus* alipire). Termen general pentru structuri de pe suprafața microorganismelor, implicate în legarea la celule.

Aerob (gr. *aer* aer; *bios* viață). **1.** Despre un microorganism care se dezvoltă doar în prezența oxigenului. **2.** Referitor la un proces care se desfășoară în prezența oxigenului, depinzând de acesta.

Aerobactină. Siderofor al *E. coli* activ în mediul intern.

Aerogenă, infecție. Infecție transmisă prin aerosoli, picături Flügge, nuclei de picături sau pulberi.

Aerotolerant. Organism anaerob care poate supraviețui în mediu aerob.

Aerosol. Dispersie de particule solide sau lichide mai frecvent într-un gaz.

Aglutinare (lat. *agglutinare* a lipi, a uni). Aglomerarea prin alipire a celulelor sau bacteriilor purtătoare ale unui antigen (aglutinogen) în prezența anticorpilor corespondenți (aglutinine).

Agresine. Factori de patogenitate care neutralizează mecanismele antimicrobiene ale

gazdei și asigură supraviețuirea microbilor în organism.

Albastru de metilen. Colorant bazic și antiseptic, derivat din thionină.

Alelă (gr. *allelon* de la unul la altul). Una dintre multiplele forme alternative ale unei gene amplasate pe același locus al unui anumit cromosom.

Alfa-hemoliză. Hemoliză parțială a eritrocitelor pe plăcile cu geloză-sânge, caracterizată printr-o arie de culoare verde în jurul coloniilor.

Alfa-hemolizină. Citotoxină care lizează parțial eritrocitele și înverzește aria de liză.

Alfa-toxină. Toxină proteică produsă de: 1. *Staphylococcus aureus*, care formează pori în membranele celulelor umane; 2. *Clostridium perfringens*, care hidrolizează lecitina din membrana celulelor umane.

Algă albastră ☞ Cianobacterie.

Alginat (lat. *alga* plantă clorofilană fără rădăcini, în general acvatică). Sare a acidului alginic:

1. utilizată în industria alimentară sau textilă; 2. utilizată în preparate pentru amprentări dentare.

Alternativă, cale. Mecanism de activare a sistemului complement de către diferite polizaharide parietale bacteriene (endotoxină, acizi teichoici) sau levurice (zimosan).

Alveolită (lat. *alveolus* cavitate mică; *ită*). 1. Inflamație a alveolelor pulmonare caracterizată prin prezența unui exsudat fibrino-leucocitar. 2. Inflamație, în general complicată cu necroză, a peretelui unei alveole dentare.

Aminoglicozide. Familie de antibiotice care inhibă sinteza proteică prin fixare pe subunitatea ribosomală 30S; cuprinde streptomycină, kanamicină, gentamicină ș.a.

Amfotropic (gr. *ampho* ambii; *trope* răsucire, întoarcere). Oncornavirus exogen care are receptori larg răspândiți la celulele vertebratelor. Infectează și este replicat de mai multe specii gazdă.

Amoniu quaternar, compuși de. Săruri quaternare de amoniu, detergenți (☞ acest termen) cationici cu efect bactericid slab, limitat la bacterii gram-pozitive.

AMPc (adenozin-3', 5'-monofosfat ciclic). Moleculă derivată din ATP, având gruparea fosfat ciclică. Funcționează ca mesager secund intracelular.

Amplificare genică ☞ PCR

Anaerob (gr. *an* privativ; *aer* aer; *bios* viață). Despre un microorganism care trăiește și crește numai în absența oxigenului.

Anaerob aerotolerant. Bacterie care nu folosește oxigenul (având metabolism de tip fermentativ), dar rămâne viabilă în prezența lui.

Anafilatoxină (gr. *ana* contra; *phylaxis* protecție; *toxikon*, otravă pentru vârful săgeților). Frațiunile C3a și C5a rezultate prin activarea complementului;

degranulează mastocitele și bazofilele cu eliberarea de histamină.

Anatoxină (gr. *ana* contra; *toxikon* otrava pentru vârful săgeților). Toxină bacteriană care, prin tratare cu formol la cald, și-a pierdut toxicitatea, dar și-a păstrat imunogenitatea.

Angiomatoză bacilară. Leziuni inflamatorii de vaso-neoformație determinate la pacienți cu SIDA de infecția cu *Bartonella quintana* sau *B. henselae*. Sunt localizate în tegument, ocazional în conjunctivă, trahee, bronhii, creier (☞ și pelioză bacilară).

Antibiotic (gr. *anti* contra; *bios* viață). Substanță care omoară sau oprește dezvoltarea microbilor. Inițial rezervat produșilor de biosinteză, în prezent a devenit sinonim al chimioterapicelor antibacteriene pentru a evita confuziile cu alte chimioterapice (e.g., citostatice).

Antibiotic, rezistență la. Condiție în care CMI a unui antibiotic este mai mare decât concentrația serică medie; lipsește efectul terapeutic.

Antibiotic, sensibilitate la. Condiție în care CMI a unui antibiotic este de cel puțin 2-4 ori mai mică decât concentrația serică medie; poate avea efect terapeutic.

Antibiotic, sensibilitate intermediară la. Condiție în care CMI a unui antibiotic este egală cu concentrația serică medie; efectul terapeutic este condiționat de concentrarea în excrete (e.g., urină, bilă) sau de posibilitatea aplicării topice.

Antibiotic, toleranță la. Condiție în care concentrația minimă bactericidă a unui antibiotic este ≥ 32 de ori decât concentrația minimă inhibitoare. Asemenea bacterii încep să se dividă când antibioticul este eliminat.

Anticorp (gr. *anti* contra; lat. *corpus* corp). Imunoglobulină produsă în organism sub acțiunea unui antigen și care are proprietatea de a reacționa specific cu antigenul corespondent.

Antigen (gr. *anti* contra; *gennan* a produce). Substanță străină care, pătrunsă în țesuturi, determină formarea de anticorpi cu care reacționează specific.

Antigenic, determinant. Porțiunea din moleculă de antigen care îi imprimă specificitatea antigenică. Sin. epitop.

Antiseptie (gr. *anti* contra; *sepsis* putrefacție). Totalitatea metodelor prin care îndepărtăm sau omorâm microbii de pe suprafețe vii (tegumente, mucoase, plăgi).

Antiseptic (gr. *anti* contra; *septikos* putrezit, infectat). Compus chimic care omoară microorganismele sau le împiedică dezvoltarea în aplicații pe țesuturile vii (tegumente, mucoase, plăgi).

Antiseptizare (gr. *anti* contra; *septikos* putrezit, infectat). Utilizarea unor agenți chimici antimicrobieni, numiți antiseptice, pentru

distrugerea unor microorganisme de pe tegumentul intact sau lezat și de pe mucoase.

Antiser (gr. *anti* contra; lat. *serum* zer). Ser sanguin care conține anticorpi ca urmare a unei vaccinări.

Anti-Streptolizină O. Anticorpi elaborați de organism împotriva streptolizinei O în cursul infecțiilor cu streptococi piogeni.

Antitoxină (gr. *anti* contra; *toxikon* otrava pentru vârful săgeților, de la *toxon* săgeată). Anticorp specific pentru o toxină.

Antrax (gr. *anthrax* cărbune). Boală contagioasă gravă cauzată de *Bacillus anthracis*. Afectează în special ierbivorele și accidental omul. Numele vine de la culoarea neagră a crustei care se formează la poarta de intrare cutanată a infecției, antraxul cutanat. Alte forme ale bolii, după poarta de intrare a infecției sunt antraxul pulmonar și antraxul digestiv. Sin.: cărbune, dalac. În limba franceză termenul rezervat acestei boli este cărbune (*charbon*, cărbune), iar cel de antrax desemnează ceea ce în românește numim furuncul antracoid, tumoră inflamatorie subcutanată rezultată din infecția cu *Staphylococcus aureus* a mai multor glande sebacee învecinate.

Anvelopă (fr. *enveloppe*). Înveliș format în jurul nucleocapsidei unor virusuri când acestea înmuguresc prin membranele celulare pentru a deveni particule infecțioase, virioni. Are înglobate glicoproteine virale cu diferite funcții, mai ales de liganzi, uneori enzimatice ori de sincițizare a celulelor infectate. Sin.: peplos.

Apă oxigenată. Soluție 3% a peroxidului de hidrogen (H_2O_2), antiseptic oxidant utilizat, în soluții puțin concentrate, la toaleta plăgilor.

Apoptoză (gr. *apoptein* a arunca în afară; *apoptosis*, cuvânt utilizat de Homer în *Iliada*, cu sensul: căderea frunzelor din copaci odată cu sosirea toamnei). Moarte celulară izolată și programată, care încheie ciclul celular normal și creează condiții fiziologice pentru înlocuirea celulei.

Arabinogalactan. Glicolipid al peretelui bacterian de tip acido-rezistent. Se dispune ca înveliș distal peptidoglicanului.

Areal (lat. *area* arie). Suprafață de răspândire a unei specii, a unui gen de plante sau animale.

Arheobacterii (gr. *arkhaios* vechi; *bakterion* dim. de la *bakteria* baston). Diviziune importantă a regnului *Prokariotae*. Cuprinde bacterii adaptate la viața în condiții terestre și acvatice extreme: salinitate crescută, temperatură crescută, anaerobioză etc. Se deosebesc de eubacterii (☞ acest termen) prin: lipsa peptidoglicanului în structura peretelui (ca atare sunt rezistente la

peniciline), lipidele membranare sunt isoprenoide cu legături eter (ester la eubacterii). Proprietăți comune cu eucariotele, dar diferite de eubacterii: rezistența ribosomilor la streptomycină și cloramfenicol, sensibilitatea ribosomilor la toxina difterică, aminoacidul inițiator al sintezei polipeptidice: metionina, inițiatorul transcripției: proteina de legare TATA, structura complexă a ARN polimerazei, prezența intronilor în unele gene ARNt. Deci arheobacteriile ar putea fi strămoșul comun al eubacteriilor și celulelor eucariote.

Asepsie (gr. *a* privativ; *sepsis* putrefacție). Ansamblul metodelor prin care evităm contaminarea unui substrat sau a unor elemente de mediu, a căror condiție microbiologică trebuie respectată.

Aseptic (gr. *a* privativ; *sepsis* putrefacție). Lipsit de microbi patogeni.

ASLO ☞ Anti-Streptolizină O

Aspirație (lat. *aspirare* a inspira, a sufla). 1. Pătrunderea unor lichide în căile aeriene. 2. Extragerea unui conținut lichid sau gazos dintr-o formațiune cavitătară sau tubulară.

ATP (adenozin trifosfat). Compus ce conține legături fosfat macroergice labile. Prin scindarea lor rezultă ADP și acid fosforic cu eliberare de energie necesară celulei.

Atractant. Substanță favorabilă dezvoltării bacteriilor (e.g., un nutrient). În gradient de atractant bacteriile mobile se îndreaptă spre concentrația mai mare a substanței.

Atrezia biliară (gr. *a* privativ; *tresis* orificiu). Imperforare sau stenozare a căilor biliare extrahepatice.

Autoimună, boală (gr. *autos* sine însuși; lat. *immunis* scutit, apărut). Stare în care apare un răspuns imun umoral sau celular împotriva structurilor propriului organism.

Auxotrof, mutantă (gr. *auxein* a mări, a crește; *triphe* hrană, nutriție). Clonă sau tulpină bacteriană care necesită stimularea creșterii pentru că nu mai poate sintetiza un anumit metabolit, care devine factor de creștere.

Axiale, filamente. Organite filamentoase de mobilitate ale treponemelor și borreliilor, dispuse mai mult în spațiul periplasmic, se inseră printr-un complex bazal la extremități și se înrulează cu extremitatea liberă în jurul protoplastului spre porțiunea mijlocie a spirochetei.

Axistil (lat. *axis* cilindru central care susține organe care se rotesc; *stilus* bastonaș ascuțit cu care erau inscripționate tablele de ceară). Organul de locomotie al leptospirelor format din două fibre axiale în jurul cărora se înrulează protoplastul.

Azitromicină. Antibiotic macrolid.

B

B, antigen. Antigenul capsular de virulență la *Shigella* spp.

B, celule. Clone limfocitare imunocompetente care se diferențiază în bursa lui Fabricius (anexă a tubului digestiv la păsări) sau în echivalenții bursali (e.g., măduva hematogenă la mamifere). După stimulare antigenică secretă imunoglobuline specifice.

Bacil (lat. *bacillus* bastonaș). Tip de bacterie cu formă alungită, asemănătoare unui bastonaș.

Bacilul lui Koch (*Robert Koch* bacteriolog german, 1843-1910). *Mycobacterium tuberculosis*

Bacitracină. Antibiotic polipeptidic ciclic, care inhibă sinteza peretelui bacterian. Activ exclusiv asupra bacteriilor gram-pozitive.

Bacitracină, testul de sensibilitate la. Test de identificare prezumtivă a streptococilor β -hemolitici de grup A: discuri impregnate cu 0,04 U sau 0,1 U bacitracină inhibă creșterea a 99,5% din streptococii grup A într-o arie cu orice diametru (0,04 U) sau ≥ 11 mm (0,1 U). Streptococii non grup A sunt rezistenți la bacitracină în proporție de 90-95%.

Bacterie (gr. *bakterion* bastonaș). Termen generic prin care este desemnat ansamblul microorganismelor unicelulare procariote.

Bactericid (gr. *bakterion*, dim. de la *bakteria*, baston; lat. *caedere*, a omorî). Substanță sau agent fizic care provoacă moartea bacteriilor.

Bacteridie cărbunoasă. Bacterie mare, imobilă. Denumire veche pentru *Bacillus anthracis*.

Bacteriemie (gr. *bakterion* bastonaș; *haima* sânge). Prezența bacteriilor în sânge.

Bacteriocină, pl. *bacteriocine*. Substanță difuzibilă, bactericidă prin fixare pe receptori specifici de pe anumite tulpini ale speciei producătoare sau înrudite. Este codificată plasmidic (factorii *col*). După specia producătoare sunt numite colicine (*E. coli*), piocine (*P. aeruginosa*), megacine (*Bacillus megaterium*). Sunt folosite ca marcheri epidemiologici. **Bacteriocinogenotipie** – spectru de activitate al unei bacteriocine față de tulpini indicatoare; **bacteriocinotipie** – spectrul de sensibilitate al unei tulpini față de bacteriocine cunoscute.

Bacteriocinotip. Unitate bacteriană infraspecifică particularizată prin receptori pentru o aceeași bacteriocină.

Bacteriocinotipie. Operațiunea de a determina bacteriocinotipul.

Bacteriofag (gr. *bakterion* bastonaș; *phagein* a mânca). Virus care infectează bacteriile. Sin.: fag.

Bacteriofag temperat. Fag care poate exista evolutiv în una din trei ipostaze: de fag matur, infectant, fag vegetativ (în curs de replicare, neinfecțios) și de profag care se replică sincron cu genomul bacteriei gazdă, în care poate fi integrat

episomal.

Bacteriofag vegetativ. Fag în curs de replicare, neinfecțios, aflat în perioada de eclipsă (replicon).

Bacteriofag virulent. Fag infecțios care există numai în ipostaza de fag matur, infectant, sau de fag vegetativ, neinfecțios aflat în perioada de eclipsă (replicon).

Bacteriolitice, reacții (gr. *bakterion* bastonaș; *lytikos* care distruge). Care sunt capabile să provoace liza sau distrucția bacteriană.

Bacteriostatic (gr. *bakterion* bastonaș; *statikos* care oprește). Substanță care inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor, fără a le distruge.

Bacteriurie (gr. *bakterion* bastonaș; *ouron* urină). Prezența bacteriilor în urină.

Barieră imună. Film de anticorpi IgA secretori ancorat în mucusul epiteliilor secretorii cu fragmentele Fab reactive spre suprafața luminală. Nu activează complementul, deci nu induce reacții inflamatorii la nivelul mucoaselor. Fixează microorganisme (sau antigene) pe care le antrenează fie în transportul mucociliar, fie le expune enzimelor și agenților antimicrobieni ai secrețiilor. Sin.: fard sau vopsea imună a mucoaselor.

BCG. Bacilul Calmette-Guérin (*Léon Charles Albert Calmette*, bacteriolog francez, profesor de igienă la Lille, apoi director adjunct al Institutului Pasteur din Paris, 1863-1933; *Jean Marie Camille Guérin*, serolog francez, Paris, 1872-1961). Tulpină de *Mycobacterium bovis* devenită avirulentă consecutiv unor numeroase treceri pe medii de cultură cu bilă de bou. Este folosită ca vaccin.

Beta-hemoliză. Liză clară, completă a eritrocitelor pe geloză-sânge; lasă mediul complet clar în jurul coloniilor.

Beta-lactamice, antibiotice. Grup de antibiotice care conțin în formula chimică un ciclu β -lactam. Inhibă sinteza peretelui bacterian.

Beta-lactamază. Enzimă care inactivează antibioticele β -lactamice prin hidroliza nucleului β -lactam.

Bilă, solubilitatea în. Test de diferențiere a pneumococilor, lizați de bilă sau săruri biliare, de alți streptococi α -hemolitici, care sunt rezistenți. Sin.: testul de biloliză.

Biocenoză (gr. *bios* viață; *koinos* asociere). Ansamblu de organisme vii ce populează și transformă un biotop.

Biofilm. Bacterii cuprinse în straturi suprapuse într-o matrice polizaharidică (glicocalix) prin care aderă la o mucoasă, la o suprafață din plastic sau sticlă.

Biotip  Biovar

Biotop (gr. *bios* viață; *topos* loc). Porțiune de spațiu, cu condiții de viață particulare, populată și

transformată de un ansamblu de organisme aflat în echilibru dinamic și numit biocenoză.

Biovar. Clasificare a tulpinilor unei bacterii în raport cu anumite activități biochimice infraspecifice. Sin. biotip.

BK ☞ Bacilul lui Koch

Blenoragie (gr. *blennos* mucus; *rhegnyai* a țâșni, a izbucni). Boală infecțioasă cu transmitere sexuală determinată de *Neisseria gonorrhoeae*. Se manifestă prin uretrită la bărbat, iar la femei este frecvent inaparentă. Sin. incorect gonoree (☞ acest termen).

Blocanți, anticorpi. Anticorpi non bactericizi și non aglutinanți care se fixează pe suprafața bacteriilor și previn legarea anticorpilor bactericizi sau aglutinanți. Apar frecvent în bruceleza subcutată sau cronică.

Boală infecțioasă. Boală provocată de microorganisme patogene.

Boli infecțioase emergente. Noi boli infecțioase. Apar prin contacte umane strânse cu populații animale (eventual umane), în care un microorganism determină infecții inaparente, sau ca urmare a variației genetice a unor asemenea microorganisme (e.g., SIDA, SARS).

Boli infecțioase reemergente. Boli infecțioase a căror endemie scăzuse la cote nesemnificative sau foarte joase (urmare a vaccinărilor generalizate, a măsurilor profilactice nespecifice) și în prezent se manifestă epidemic (e.g., tuberculoza, difteria).

Boala Lyme (*Lyme*, oraș în statul Connecticut, SUA, unde a fost descrisă prima oară boala). Boală infecțioasă determinată de *Borrelia burgdorferi*, care are ca vector căpușa *Ixodes dammini*. Evoluează în trei faze: prima – cutanată, eritem cronic migrator; a doua – cu manifestări neurologice și cardiace (tulburări de conducere atrioventriculare); a treia, în lipsa antibioterapiei, cu manifestări articulare, atrofie cutanată, mialgii, artralгии cronice și, uneori, sindrom neurologic.

Boala zgârieturii de pisică. Infecție determinată de *Bartonella henselae* transmisă de la pisici prin mușcătură, zgârieturi, purici sau căpușe. Se

manifestă prin febră moderată, papulă sau pustulă la poarta de intrare, adenită regională ocazional supurată. Evoluția bacteriemică însoțită de meningită aseptică este posibilă

Borrelia (*Amédée Borrel*, bacteriolog francez, 1867-1936). Spirochete descrise de A. Borrel; găzduite de artropode, la om determină febrele recurente epidemice (vector *Pediculus humanus*) sau endemice (vector *Ornithodoros* spp).

Botulinică, toxină (lat. *botulus* caltaboș). Cea mai puternică toxină A-B, care inhibă secreția de acetilcolină în sinapsele mioneurale ale nervilor cranieni; provoacă paralizie flască (diplopie, disfagie, disartrie, paralizia mușchilor respiratori, stop cardiac). Are șase tipuri antigenice (A-F). Sunt codificate de gene ale unui fag temperat (toxinele C și D) sau cromosomale (A, B, E, F). Profagul care codifică toxinele C, D lizogenizează mai frecvent tulpini de *Clostridium botulinum*, rar *C. butiricum*. Toxina botulinică tip G, al șaptelea tip antigenic, codificată plasmidic, este deocamdată asociată cu *C. argentinense*.

Botulism (lat. *botulus* caltaboș). Intoxicație prin ingestie de alimente în care *C. botulinum* și-a eliberat toxina. Uneori botulismul este urmarea colonizării intestinului sugarilor cu o tulpină toxigenă de *C. botulinum*. Rar boala apare după contaminarea plăgilor cu spori de *C. botulinum* care germinează și eliberează toxina în țesuturile traumatizate.

Bronșiolită (lat. medievală *brochiolus* dim. de la *bronchia*, gr. *brankhos*, bronhie; -ită). Inflamație a bronșiolelor, care afectează de obicei copiii sub doi ani și este cauzată de o infecție virală.

Bronșită (lat. medievală *bronchia* din gr. *brankhos*; -ită). Termen generic pentru orice inflamație a bronhiilor.

Bubon (gr. *boubon* stinghie, regiune inghinală). 1. Tumefacție ganglionară caracteristică pestei zise bubonice (bubon pestos). 2. Anterior, termenul era utilizat pentru desemnarea inflamației ganglionilor inghinali (de origine infecțioasă).

C

C, polizaharid. Antigen polizaharidic din peretele multor streptococi. Are specificitate de grup pe baza căreia sunt definite 20 de grupe serologice (A-H și K-W).

Caliciformă, celulă (lat. *calyx*, gr. *kalyx* cupă; lat. *forma*, formă). Celulă epitelială cilindrică, în formă de calice, secretoare de mucus.

Calmodulină (lat. *calx*, *calcis* var, calciu; *modulari* a ritma, a modula). Proteină citoplasmatică care fixează ionii de calciu. Fixarea

calciului induce o modificare de conformație care permite complexului Ca^{2+} -calmodulină să se fixeze pe proteinele țintă și să le activeze.

Cancer (lat. *cancer* crab, rac). Tumoră determinată de proliferarea anarhică și nedefinită a unui clon celular denumit canceros, care conduce la distrugerea țesutului original, la extensia regională, metastazarea tumorii și la moarte.

Capsidă (lat. *capsa* cutie). Ansamblu structural alcătuit din proteine (capsomere) care protejează

acidul nucleic al unui virus și au rol în fixarea multor virusuri pe receptori celulari specifici.

Capsomere (lat. *capsa*, cutie; gr. *meros*, parte). Proteine de structură asamblate în grupe de 5-6 pentru a forma capsida virală.

Capsulă (lat. *capsula*, cutie mică). Formă a glicocalixului bacterian structurat dens încât este impenetrabil pentru particule colorate și nu poate fi separat prin centrifugare de corpii bacterieni. Observată ca halou clar în jurul corpurilor bacterieni în colorațiile negative (e.g., cu tuș de India). Are efect antifagocitar.

Carbapeneme. O clasă de antibiotice β -lactamice.

Carboxifilă (lat. *carbo* cărbune; gr. *oxys* acru, oxigen; gr. *philos* prieten). Bacterie heterotrofă care necesită pentru creștere cantități de CO_2 mai mari decât cele din aer. Sin.: capnofil (gr. *kapnos* fum; *philos* prieten).

Carcinogeneză (gr. *karkinos* rac; *genesis* naștere). Proces de formare a tumorilor maligne, cancerelor.

Cardiolipin (gr. *kardia* inimă; *lipos* grăsime). Moleculă rezultată din esterificarea glicogenului cu două molecule de acid fosfatidic. Are proprietăți de haptenă, iar cel extras din cordul de bou este folosit în serodiagnosticul sifilisului.

Cardioreumatismală febră ☞ Reumatism articular acut

Catalază (gr. *katalyein* a distruge, a dizolva). Enzimă ce descompune apa oxigenată, cu degajare de oxigen; activează izoniazida, un medicament antituberculos.

Cateter (gr. *katheter*, de la *kathienai* a plonja). Tub subțire și flexibil, plasat într-un conduct pentru a-l explora, pentru a evacua o cavitate sau a injecta un produs.

CD4. Proteină de suprafață a celulelor T ajutoare.

CD8. Proteină de suprafață a celulelor T citotoxice și T supresoare.

Cefalosporine. Clasă de antibiotice β -lactamice.

CFA I și CFA II (*Colonization Factor Antigen*). Familie de pili care asigură aderența tulpinilor de *E. coli* enterotoxigene (ECET) la enterocite.

Cheie dihotomică (gr. *dikha* în două; *tome* tăiere, secțiune). Analiză antitetică utilizată la identificarea preliminară a microorganismelor. Întrebare privind existența unui anumit caracter la care răspunsul este numai Da sau Nu.

Chemotaxie (gr. *khemeia* alchimie; *taxis* aranjare, ordonare). Fenomenul de atragere sau de respingere a unei structuri vii sub acțiunea unui agent chimic.

Chimioterapic (gr. *khemeia* alchimie; *therapeia* tratament). Termen generic utilizat pentru compuși chimici cu toxicitate selectivă folosiți pentru tratamentul unor boli infecțioase sau neoplazii.

Chimioterapie (gr. *khemeia* alchimie; *therapeia* tratament). Terapie cu substanțe chimice în particular în bolile infecțioase și în cancer. Termenului de chimioterapie antiinfecțios îi este preferat în prezent acela de antibiotic.

Chinolone. Clasă de antibiotice derivate din acidul nalidixic. Inhibă replicarea ADN.

Chlamidie (gr. *khlamys* hlamidă, mantie grecească fixată pe umărul drept cu o agrafă). Bacterie cocoidă cu perete de tip gram-negativ, total dependentă de energia furnizată de celula gazdă, dar capabilă de biosinteze proprii; parazit obligat intracelular, formează microcolonii cu aspect de incluziuni citoplasmice.

Cianobacterie. Bacterie fotosintetizantă. Sin.: algă albastră.

-cid (lat. *coedere* a ucide). Sufix cu semnificația „care ucide”, „ucigaș”.

CID ☞ Coagulare intravasculară diseminată

Cil (lat. *cilium* geană, cil). Expansiune fibrilară pe membrana citoplasmică de la polul luminal al unor celule epiteliale (e.g., epiteliul respirator), sau pe învelișul unor protozoare.

Ciliar, transport ☞ Mucociliar transport

Ciliat. Care prezintă cili

Cistită (gr. *kystis* sac, vezică; *-ită*). Inflamația vezicii; fără alte precizări se referă la vezica urinară.

Citokine (gr. *kytos* celulă; *kinein* a mișca). Molecule secretate de celulele sistemului imunitar, care asigură comunicarea între aceste celule, controlându-le creșterea, diviziunea și diferențierea.

Citolitic-citotoxice, reacții (gr. *kytos* celulă; *lytikos* care distruge; *toxikon* otrăvă pentru vârful săgeților, de la *toxon* săgeată). Care produc distrugerea și/sau efecte toxice asupra celulelor. Distrucția celulelor poate fi provocată prin: 1. Complement, activat de anticorpii față de antigene exprimate pe suprafața membranelor celulare. 2. Limfocite NK și macrofage care se fixează la celula țintă prin anticorpii prezenți pe suprafața acesteia (fenomenul se mai numește ADCC, *Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity*).

Citopatic (gr. *kytos* celulă; *pathos* boală). Care produce modificări patologice la nivel celular.

Citoschelet (gr. *kytos* celulă; *skeletos* descarnat, uscat). Ansamblu de filamente proteice situat la periferia citoplasmei; menține forma celulei.

Citotoxică, celulă T. Celulă T cu antigen CD_8 pe suprafață. Ucide celulele gazdei care exprimă antigene străine pe membrana citoplasmică.

Citotoxină (gr. *kytos* celulă; *toxikon* otrăvă pentru vârful săgeților, de la *toxon* săgeată). Toxină care omoară celulele mamiferelor.

Climax, comunitate de organisme (gr. *klimax* scară). Stadiu ideal de echilibru atins de către o biocenoză în condiții date de mediu.

Clonă (gr. *klon* mlădiță, vlăstar). Populație de celule sau de organisme formată prin diviziune repetată (asexuată) pornind de la aceeași celulă sau, respectiv același organism. Individizii unei clone sunt genetic identici.

Cloramfenicol. Antibiotic din grupul fenicolilor. Are spectru antibacterian larg.

Cloramfenicol acetil-transferază. Enzimă, codificată plasmidic, de inactivare a cloramfenicolului.

CMB. Concentrația minimă bactericidă, cantitatea cea mai mică de antibiotic care omoară 100-99,9% din indivizii unei tulpini testate.

CMI. Concentrația minimă inhibitoare, cantitatea cea mai mică de antibiotic care inhibă dezvoltarea unei tulpini bacteriene testate.

Coagulare intravasculară diseminată. Coagulopatie în care apar trombi circulanți, consumarea locală a factorilor coagulării și a plachetelor, fibrinoliză secundară reacțională. Este însoțită de sindrom hemoragic. Semn al șocului septic.

Coagulază (lat. *coagulare* a închea, a coagula). Enzimă secretată de unii microbi și, îndeosebi, de *S. aureus*, care coagulează plasma oxalată.

Coc (gr. *kokkos* boabă). Bacterie sferică, ovală sau reniformă.

Colagenază (gr. *kolla* clei; *gennan* a produce; -*ază* sufix pentru denumirea enzimelor). Enzimă produsă de specii de *Clostridium*, care degradează collagenul, favorizând extensia gangrenei gazoase.

Coliformi, bacili. Bacili gram-negativi, nesporulați, aerobi sau facultativ anaerobi, fermentează lactoza cu producere de acid și gaz în 48 ore la 35-37°C.

Colicină ⚡ Bacteriocină

Colită (gr. *kolon* intestin gros; -ită). Inflamație a colonului, afectând mai multe segmente sau totalitatea acestuia.

Colonie (lat. *colonia* colonie). Aglomerare de bacterii care se dezvoltă dintr-o singură celulă sau grup de celule (unitate formatoare de colonii), care au aderat, după epuizare corespunzătoare a inoculului, la suprafața unui mediu nutritiv gelificat.

Colonizare. Multiplicarea unui microorganism pe suprafețele gazdei fără o reacție detectabilă din partea acesteia.

Columnare, celulă (lat. *columnaris* în formă de columnă). Celulă a unui epiteliu mono- sau pseudostratificat, care este în contact cu membrana bazală.

Comensalism (lat. *commensalis*, *cum* cu; *mensalis* de masă, *mensa* masă). Ipostază a simbiozei în care numai unul din consorți profită de pe urma asocierii fiind găzduit și nutrit fără ca celălalt, gazda, să aibă vreun beneficiu.

Competență (lat. *competentia* potrivire). 1. Capacitatea sistemului imun de a răspunde la un antigen. 2. Calificare profesională a unui medic specialist într-un domeniu înrudit, complementar, mai restrâns decât cel al specialității de bază. 3. Capacitatea unei persoane de a acționa autonom și eficient în exercițiul profesional.

Complement, sistem (lat. *complementum* întregire, completare). Grup de proteine plasmatice cu capacități biologice potențiale care devin efective numai după activare într-o cascadă de reacții enzimatiche declanșată pe două mari căi: *calea clasică* (activată de complexe antigen-anticorpi IgG sau IgM) și *calea alternativă*, activată de polizaharide bacteriene ori levurice.

Complex de atac membranar. Complexul C5b67 al complementului inserat într-o membrană biologică și oligomerizat prin reacție stoichiometrică cu C8; formează pori membranari care se largesc prin fixarea lui C9. Rezultatul formării porilor este -cid, direct pentru celulele eucariote și indirect pentru bacteriile gram-negative la care prin porii creați în membrana externă lizozimul capătă acces la peptidoglicanul din spațiul periplasmic. Sin.: complex ucigaș.

Congenital (lat. *congenitus* născut odată cu). Care există la naștere, cu origine, de obicei anterioară nașterii, deci în viața intrauterină.

Conjugare (lat. *coniugare* a uni). Modalitate de transfer genetic prin contactul fizic între bacterii.

Conjugativ plasmid ⚡ Conjugon

Conjugon (lat. *coniugare* a uni, de la *cum* cu; *iugum* jug). Plasmid conjugativ, care codifică structuri și enzime necesare transferului ADN.

Conjunctivită (lat. *coniunctivus* care leagă; -ită). Inflamația conjunctivei.

Contagioasă (lat. *contagiosus* molipsitor, de la *cum*, cu și *tangere*, a atinge). Boală care se transmite de la o persoană la alta.

Contagiu (lat. *contagio* contact, molipsire). Transmiterea unei boli de la un bolnav la o persoană care fie poate deveni purtător sănătos, fie se poate îmbolnăvi. Contagiul poate fi: direct (prin contact direct între cele două persoane); indirect (când există un intermediar – animal domestic, insecte, obiecte contaminate).

Contaminat (lat. *contaminare* a murdări, a pângări). Suprafață inertă sau vie pe care se află microorganisme, substanțe radioactive sau chimice.

Convulsie (lat. *convulsio* convulsie, de la *convellere*, a zdruncina). Con tracție involuntară a uneia sau mai multor grupe musculare, care determină mișcări localizate sau ale întregului corp.

Cord factor. Acizi micolici din peretele celular al bacililor tuberculozei virulenți. Determină creșterea acestor bacili sub formă de corzi flexuoase.

Cotrimoxazol. Asociație sinergică între sulfametoxazol și trimetoprim.

Criolectronmicroscopie (gr. *kryos* frig). Metodă de studiu a structurii fine a virusurilor și bacteriilor. Suspensia microbiană este congelată brusc la temperatură inferioară punctului eutectic (⚡ acest termen). Blocul de congelare este fracturat, iar suprafața de fractură este prelucrată pentru electronmicrografie.

Cromogen, substrat (gr. *chroma* culoare; *gennan* a produce). Substrat care prin scindare enzimatică eliberează din moleculă un cromofor (substanță colorată).

Crup (cuvânt de origine scoțiană – *croup*, onomatopee după zgomotul aspru al tusei). 1. Orice afectare obstructivă a laringelui la copii, caracterizată prin respirație dificilă, zgomotoasă și tuse lătrătoare. 2. Laringită difterică, cu edem important al mucoasei laringiene și cu false membrane, care provoacă asfixie.

Cultură (lat. *cultura* cultivare). Totalitatea bacteriilor acumulate prin multiplicare într-un mediu de cultură.

D

DAEC *Escherichia coli* difuz aderentă

Dakin soluție (soluția lui Dakin). Soluție diluată de hipoclorit de sodiu utilizată pentru antiseptizarea plăgilor.

Dalfopristină. Antibiotic din clasa streptograminelor.

Debridare (lat. *de* separat de; germ. *Bridel* hăț). 1. Operație efectuată pentru secționarea unei bride care comprimă sau strangulează un organ. 2. Deschiderea largă a unei plăgi anfractuase sau a unei colecții purulente pentru excizia țesuturilor necrozate, îndepărtarea corpiilor străini, drenarea puroiului.

Decontaminare (lat. *de* separat de; *contaminare* a murdări). Eliminarea sau reducerea numărului de microorganisme patogene.

Derm (gr. *derma* piele). Strat de țesut conjunctiv dispus în piele intermediar, între epiderm și hipoderm. Conține vase sanguine și limfatice, nervi, glande și foliculi piloși.

Dermonecrotică, toxină. Toxină produsă de *Bordetella pertussis* care, injectată intradermic, determină leziuni cutanate. Efectul este întâlnit și la alte toxine, dar cu mecanism diferit (e.g., toxina difterică).

Desensibilizare (lat. *de* de la; *sensibilis* care se poate percepe cu simțurile). Metodă de prevenire a reacțiilor inflamatorii alergice prin administrarea repetată a alergenului în concentrații mici, progresiv crescânde, care nu provoacă simptome. Se induce astfel toleranța sistemului imun la alergenul respectiv.

Desmosomi (gr. *desmos* bandă, ligament; *soma* corp). Joncțiune intercelulară specializată, formată, de obicei, între două celule epiteliale pentru asigurarea coeziunii intercelulare.

Detergent (lat. *detergere* a curăța). Substanță tensioactivă cu acțiune de curățire și dezinfectare. Există detergenți anionici, cationici, neionici și amfolitici.

Culturi celulare. Procedu de menținere a unor celule în exteriorul organismului, asigurându-le multiplicarea sub forma unui film celular continuu. Mediul de cultură necesar include: săruri minerale tamponate, aminoacizi, vitamine, glucoză, ser bovin, alți factori de creștere. Celulele provin fie din organe umane sau animale (**culturi celulare primare**), fie din țesut embrionar (**linii diploide**), fie din tumori maligne (**linii permanente**).

Curățire. Procedu prin care sunt îndepărtate substanțe organice și microorganisme de pe suprafața unui obiect; precede de regulă dezinfectia și sterilizarea.

Dezinfectant (lat. *dis* separat; *infectus* de la *inficere* a strica, a otrăvi). Substanță antimicrobiană pentru aplicări pe materiale inerte.

Dezinfecție (lat. *dis* separat de; *infectus* de la *inficere* a strica, a otrăvi). Procedee fizice sau chimice folosite pentru distrugerea microorganismelor, dar nu în mod obligatoriu a sporilor bacterieni sau a altor microorganisme relativ rezistente (micobacterii, virusuri nude); în raport cu spectrul antimicrobian, se clasifică în agenți cu activitate înaltă, intermediară sau joasă.

D-glutamat. Aminoacid dextrogir care formează capsula la *B. anthracis*.

DI₅₀ *Doză infectantă 50%*

Diaree (gr. *diarrhoia* curgere prin toate părțile). Semn clinic caracterizat prin evacuarea frecventă și rapidă de fecale semisolide sau lichide.

Difterică, toxină. Toxina produsă prin conversie lizogenică de *Corynebacterium diphtheriae*. Are efect necrotic prin ADP-ribozilarea EF₂ din celulele mamiferelor.

Dinamica semnificativă a anticorpilor. Creșterea de cel puțin 4X a titrului anticorpilor în două probe de sânge prelevate în momentul examinării pacientului și după 2-3 săptămâni.

Diplococi (gr. *diploos* dublu; *kokkos* boabă). Coci așezați în perechi, datorită persistenței legăturii între celulele surori timp de o generație.

Disbioză (gr. *dys* anormal, dificil). Colonizări microbiene anormale.

Disgonic (lat. *dis* dificil, greu, anormal; gr. *gennan* a procrea, a reproduce prin generație). Referitor la micobacterii, specie care formează după un timp mai lung de incubare colonii mici într-o cultură săracă (e.g., creșterea *M. bovis* pe mediul Löwenstein-Jensen).

Dizenterie bacilară (gr. *dys* greu, dificil; *enteron* intestin). Infecție intestinală, localizată mai ales la nivelul colonului, determinată de specii din genul *Shigella*, manifestată prin diaree muco-

sanguinolentă, tenesme rectale, dureri abdominale colicative și febră. În scaun sunt prezente numeroase leucocite polimorfonucleare.

Dizenteriform, sindrom. Sindrom diareic asemănător celui din dizenterie.

DLM ☞ Doză limită mortală.

DL₅₀ ☞ Doză letală 50%.

Doză infectantă 50%. Numărul de organisme necesar pentru a infecta 50% dintre animalele sau tuburile cu culturi celulare inoculate.

Doză limită mortală. Numărul minim de microorganisme sau cantitatea minimă de toxină care omoară toate animalele inoculate.

Doză letală 50%. Numărul minim de microorganisme sau cantitatea de toxină care omoară 50% din animalele inoculate.

Dr, adezină. Adezină a tulpinilor uropatogene de *E. coli* al cărei receptor celular este antigenul de grup sanguin Dr.

DTP, vaccin. Vaccin anti-diftero-tetano-pertussis. Conține anatoxinele difterică, tetanică și o suspensie inactivată de *Bordetella pertussis*.

E

EAggEC ☞ *Escherichia coli* enteroagregativă

ECAD ☞ *Escherichia coli* aderent difuz

Eclipsă, perioadă de. Intervalul de timp dintre decapsidare și apariția virionilor progeneri, în care are loc multiplicarea virusului și dispare infecțiozitatea acestuia.

Ecotropic (gr. *oikos* casă, ambianță; *tropos* răscucire). Oncornavirus exogen, care infectează și este replicat numai în celulele gazdei naturale.

Ectopică, sarcină (gr. *ektopos*, în afara locului normal). Sarcină în care oul fecundat se dezvoltă în afara cavității uterine.

Edem (gr. *oidema*, umflătură). Acumulare excesivă de fluid în țesuturi.

Edematogen, factor. Porțiunea activă a toxinei *Bacillus anthracis*, activator al adenilat-ciclazei care cauzează edemul în antraxul cutanat.

EF-2 ☞ factorul de elongare 2

Eflux, mecanism. Pompă proteică a membranei citoplasmice care asigură rezistența la tetraciline, macrolide și chinolone prin eliminarea acestor antibiotice din citoplasma bacteriană. Este codificată plasmidic.

EHEC ☞ *Escherichia coli* enterohemoragică

Ehrlichioza granulomatoasă umană. Boală determinată de tulpini de *Ehrlichia*, neclasificate ca specie, care se multiplică în granulocitele umane.

EIEC ☞ *Escherichia coli* enteroinvazivă

Elastază (gr. *elastos* docil, maleabil; *-ază*). Enzimă proteolitică ce hidrolizează elastina.

Elastină (gr. *elastos* docil, maleabil). Proteină, constituent amorf, a fibrelor elastice.

Electroforeză (gr. *elektron* chihlimbar, corp care se electrizează prin frecare; *phoresis* transportare). Metodă de separare, în câmp electric, a componentelor încărcate electric (particule, molecule, celule etc.) dintr-un amestec. Asupra particulelor acționează două forțe de sens opus, forța electrică și forța de frecare. Viteza de migrare a particulelor fiind diferită, în funcție de masă, dimensiunile, sarcina electrică a acestora, ele pot fi

separate. În medicină, electroforeza este larg utilizată îndeosebi în separarea diferitelor fracțiuni proteice din plasmă sau serul sanguin; în biologia moleculară pentru analiza acizilor nucleici.

Electroforeză imună contracurent. Electroforeză efectuată în gel de agar cu pH 8,2-8,6 și tampon cu forță ionică mai mică decât cea din băile electrozilor. Anticorpul au încărcătură electro-negativă slabă și sunt antrenați de curentul de electroendosmoză spre catod, iar antigenele cu sarcină electronegativă mai mare, sunt antrenate în câmpul electric spre anod. Dacă godeul cu anticorpi este dispus spre anod iar cel cu antigen spre catod cei doi reactivi se deplasează rapid (30-60 minute) și formează la locul întâlnirii în proporții echivalente linii de precipitare. Sin.: contraimunelectroforeza.

Electroforeză în câmp pulsatil. Procedeu de electroforeză în care polaritatea câmpului electric este inversată cu regularitate. În acest mod pot fi separate fragmente mari de ADN.

Elementar, corp. Forma infecțioasă extracelulară și metabolic inertă a chlamidiilor.

ELISA (engl. *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* test de imunoabsorbție cu anticorpi marcați enzimatic). Metodă sensibilă de detectare și măsurare a unor cantități foarte mici de substanțe cu proprietăți antigenice. Se bazează pe reacția antigen-anticorp, unul din componenți fiind fixat pe un suport solid. Legarea celuilalt component este pusă în evidență cu un anticorp specific cuplat cu o enzimă. Prin adăugarea substratului enzimei se dezvoltă o reacție de culoare apreciată vizual sau colorimetric.

EITor. Biovar al *Vibrio cholerae* serogrup O:1, răspunzător de actuala pandemie a holerei.

Emulsie (lat. *emulsum*, de la *emulgere* a mulge până la ultima picătură, a seca). Sistem dispers coloidal format din două lichide nemiscibile, în care unul este fin dispersat în celălalt, sub formă de picături mici de ordinul micrometrilor.

Encefalopatie spongiformă (gr. *enkephalos*

creier, de la *en* în, *kephale* cap; *pathos* boală; lat. *spongia*, gr. *spongion* burete; lat. *forma* formă). Grup de boli prionice, animale și umane particularizat histopatologic prin degenerescență spongiformă, glioză, pierdere neuronală și apariția plăcilor de amiloid în creier în absența oricărei inflamații sau răspuns imun. Clinic se manifestă prin demență, tulburări de vedere, ataxie.

Endemie (gr. *en* în; *demos*, popor). Boală prezentă constant într-o populație, țară. Evoluează cu frecvență care variază puțin de la un an la altul.

Endemic. Despre o boală care prezintă caracteristicile unei endemii.

Endocardită acută (gr. *endon* înăuntru; *kardia* inimă; *-ită*). Inflamație exsudativă și proliferativă a endocardului, care survine pe valve cardiace normale.

Endocardită subacută (gr. *endon* înăuntru; *kardia* inimă; *-ită*). Inflamație exsudativă și proliferativă a endocardului, care survine pe valve cardiace lezate (stenoză, insuficiență).

Endocitoză (gr. *endon* înăuntru; *kytos* celulă; *-oză*). Mecanism fiziologic de captare în celulă a unor substraturi (inclusiv microorganisme) din mediul extracelular. În timpul endocitozei are loc o modificare reversibilă (de obicei invaginare) a membranei plasmactice.

Endosimbioză (gr. *endon* înăuntru; *syn* împreună cu; *bios* viață). Conviețuire strânsă între un microorganism și o celulă în care trăiește.

Endoteliu (gr. *endon* înăuntru; *thele* ridicătură, mamelon; termen creat prin analogie cu epiteliu). Strat de celule plate care acoperă peretele intern al vaselor sanguine, limfatice și cavităților inimii.

Endogenot (gr. *endon* înăuntru; *gennan* origine). Materialul genetic propriu bacteriei receptor din cadrul transferului genetic.

Endospor (gr. *endon* înăuntru; *spora* sămânță). Formă de rezistență care apare în interiorul unei bacterii. Endosporii apar unul singur/celulă bacteriană. A nu se confunda cu sporii care sunt forme de înmulțire a micetelor și unor plante inferioare.

Endotoxină ☞ Lipopolizaharid

Endotoxinic, șoc. Manifestare clinică a intoxicației cu doze mari de endotoxină. Vasoconstricție arteriolară și venulară precoce este urmată de vasodilatație periferică cu creșterea permeabilității vasculare, stază în microcirculație, scăderea circulației venoase de reîntoarcere, scăderea debitului cardiac, prăbușirea tensiunii arteriale și deces.

Enteric (gr. *enteron* intestin). Referitor la intestin.

Enterobactină. Chelator de fier al enterobacteriaceelor, care neutralizează efectul bacteriostatic al lactoferinei din secrețiile mucoaselor.

Enterococi (gr. *enteron* intestin; *kokkos* boabă). Streptococi din grupul D care au fost individualizați

ca genul *Enterococcus* pe baza caracterelor biochimice și genetice.

Enterotoxina termolabilă (LT). Exotoxină diareigenă A-B, termolabilă, codificată plasmidic la *E. coli* și alte enterobacteriacee sau cromosomal la vibriunii holerigeni. Acționează ca activator al adenilatciclazei membranare a enterocitelor. Efectul este pierderea în lumenul intestinal a apei și electroliților din plasmă.

Enterotoxina termostabilă (ST). Exotoxină diareigenă A-B, termostabilă, codificată plasmidic la *E. coli*. Acționează ca activator al guanilatciclazei enterocitelor.

EPEC ☞ *Escherichia coli* enteropatogenă

Epidemie (gr. *epidemos* care circulă în toată țara, de la *epi* pe, *demos* popor). Apariția bruscă și propagarea rapidă într-o colectivitate a unei boli contagioase cu filiație demonstrată între îmbolnăviri.

Epidemic (gr. *epidemos* care circulă în toată țara, de la *epi* pe, *demos* popor). Care prezintă caracteristicile unei epidemii.

Epiderm (gr. *epi* pe; *derma* piele). Stratul extern al pielii, alcătuit dintr-un epiteliu pavimentos stratificat keratinizat.

Epiglotită (gr. *epi* pe; *glotta* sau *glottis* limbă; *-ită*). Inflamație a epiglotei.

Episom (gr. *epi* pe; *soma* corp). Plasmid integrat linear în cromosomul bacterian.

Epitelioid, celule (gr. *epi* pe, deasupra; *thele* mamelon; *eidos* în formă de). Celule asemănătoare celor epiteliale rezultate prin metaplazierea macrofagelor.

Epiteliu columnar pseudostratificat. Epiteliu în care toate celulele au contact cu membrana bazală, dar numai celulele mature ajung la suprafața luminală, iar celulele tinere nu. De aceea nucleii apar în nivele diferite: e.g., epiteliul respirator, epiteliul salpingian.

Epiteliu respirator ☞ Epiteliu columnar pseudostratificat

Epiteliu simplu (gr. *epi* pe; *thele* mamelon, ridicătură; termen creat de anatomistul Ruysch pe la 1700 pentru a desemna „pielea care acoperă mamelonul”; sensul s-a extins apoi la toate membranele de înveliș). Țesut de înveliș al suprafeței și cavităților interne ale organismului format din celule dispuse pe un singur strat.

Epiteliu stratificat pavimentos. Epiteliu în care numai celulele tinere au contact cu membrana bazală și pe măsura maturării se formează straturi suprapuse cu celulele superficiale poligonale și aplatizate, care se descuamează: e.g., epiderma, epiteliul orofaringian, vaginal. Sin.: epiteliu malpighian.

Epitop (gr. *epi* pe; *topos* loc). Partea moleculei de antigen unde se leagă anticorpusul specific, fiind

determinant antigenic. Structura epitopului este complementară spațial celei a paratopului.

Eritem (gr. *erythema*, roșeață). Înrôșire a pielii datorată vasodilatației.

Eritem migrator. Eritem care se extinde circular în boala Lyme, pornind de la înțepătura căpușei care a inoculat *Borrelia burgdorferi*.

Escară (gr. *eskara* crustă). Necroză uscată a dermului și hipodermului, care tinde să se detașeze de țesuturile învecinate indemne.

***Escherichia coli* aderent difuz**. Patotip diareigen al *E. coli*. Factori de virulență identificați sunt adevine fimbriale codificate plasmidic sau cromosomal. Determină alungirea microvililor care le includ fără internalizare în enterocit. Abrevieri: rom. ECAD; engl. DAEC.

***Escherichia coli* enteroagregativ**. Patotip diareigen al *E. coli* care determină diaree persistentă prin legare agregativă la enterocite. Virulența este asigurată de fimbriile AAF I și II de aderență agregativă, codificate plasmidic. Abrevieri: rom. ECEAg; engl. EAggEC.

***Escherichia coli* enterohemoragic**. Patotip diareigen al *E. coli* care aparține mai frecvent serogrupului O157 și ocazional O26 sau O111. Determină diaree cu scaune hemoragice, care se complică frecvent cu sindrom hemolitic uremic. Factori de virulență sunt două Verotoxine, una similară cu toxina Shiga, codificată de un profag. Abrevieri: rom. ECEH; engl. EHEC.

***Escherichia coli* enteroinvaziv**. Patotip diareigen al *E. coli* care determină sindrom dizenteriform prin capacitatea enteroinvazivă controlată de proteinele Ipa (B-D), codificate plasmidic. Abrevieri: rom. ECEI; engl. EIEC.

***Escherichia coli* enteropatogen**. Patotip diareigen al *E. coli*. Virulența este asigurată de fimbriile BFP codificate plasmidic. Aderă la enterocite cărora le modifică citoscheletul și „șterg” microviliile încât membrana citoplasmică „îmbrățișează” bacteria sau microcoloniile ei ca într-o cupă. Abrevieri: rom. ECEP; engl. EPEC.

***Escherichia coli* enterotoxigenă**. Patotip diareigen al *E. coli* care determină sindrom holeriform prin capacitatea de a adera la enterocite (asigurată de fimbriile CFA) și enterotoxina termolabilă ori termostabilă pe care le secretă. Ambii factori de virulență sunt codificați plasmidic. Abrevieri: rom. ECET; engl. ETEC.

***Escherichia coli* fenotipul bacteriemic**. Tulpini de *E. coli* care aparțin unui număr limitat de serogrupe O (O2, O4, O6, O16, O18, O75) care au factori de patogenitate codificați plasmidic (o hemolizină, aerobactină) sau cromosomal (antigenele O și K). Invadează țesuturile și mediul intern prin variate porți de intrare ca mucoasa intestinală a nou-născutului, rinichiul pielonefritic, mucoasa uterină *postabortum* sau *postpartum* etc.

***Escherichia coli* fenotipul uropatogen**. Tulpini care poartă pili ce recunosc receptori ai uroepiteliului similari antigenelor de grup sanguin P și Dr.

***Escherichia coli* K12**. Tulpină de colecție, avirulentă, larg utilizată ca receptoare de material genetic, inclusiv în ingineria genetică.

Etambutol. Antibiotic anti-micobacterian; probabil inhibitor al sintezei acizilor micolici.

ETEC φ *Escherichia coli* enterotoxigenă

Eucariot (gr. *eu* bun; *karyon* sâmbure, nucleu). Organism viu, compus din una sau mai multe celule, care posedă nucleu și citoplasmă distincte. Include toate formele de viață, cu excepția virusurilor și bacteriilor, care sunt procariote.

Eubacterii (gr. *eu* bine; *bakterion* dim. de la *bakteria* baston; adevăratele bacterii). Diviziune importantă a regnului *Prokariotae*. Include și bacteriile patogene. Se deosebesc de arheobacterii (φ acest termen) prin: prezența peptidoglicanului în peretele bacterian (ca atare sunt sensibile la peniciline); au lipide cu legături ester; puține sunt termofile; au ribosomii sensibili la streptomycină și cloramfenicol, dar rezistenți la toxina difterică; inițiatorul lanțului polipeptidic este formil-metionina; inițiatorul transcripției este factorul sigma; structura ARN polimerazei este simplă. În ansamblu au mai multe deosebiri de celulele eucariote decât arheobacteriile.

Eugonic (gr. *eu* bine; *gennân* a reproduce prin generație, a procrea). Referitor la micobacterii, specie care formează colonii mari, bine dezvoltate, într-o cultură luxuriantă (e.g., *M. tuberculosis*).

Eutectic (gr. *eu* bine; *tēiken* a topi). Proprietate a amestecurilor de substanțe solide în proporții determinate, care se topesc sau se solidifică la o temperatură inferioară punctului de topire a fiecăruia dintre constituenți. La punctul eutectic citoplasma congelează în stare amorfă și nu apar cristale de gheață cu o hiperconcentrare a sărurilor, care, ambele, ar putea rupe și distorsiona structuri ale fazei disperse. Punctul eutectic pentru citoplasmă este de $-21,3^{\circ}\text{C}$.

Exfoliatină (lat. *exfoliare* a desfrunzi, a rupe foile, de la *ex* în afară; *folium* frunză, foaie). Exotoxină produsă de *Staphylococcus aureus*, care rupe desmozomii și determină decolarea straturilor superficiale ale epidermei de stratul celular bazal, germinativ. Cauzează sindromul pielii opărite și impetigo bulos.

Exogenot (gr. *exo* în afară; *gennan* a produce). Materialul genetic transferat de la bacteria donor la cea receptor.

Exotoxină (gr. *exo* în afară; *toxikon* otrava pentru vârful săgeților, de la *toxon*, săgeată). Substanță proteică, elaborată de unele microorganisme și eliminată la exterior, cu acțiune toxică specifică asupra organismelor superioare.

Exotoxină A. Toxină produsă de *Pseudomonas aeruginosa* cu efecte asemănătoare toxinei difterice, de care diferă însă prin structura imunochimică și receptorii celulari.

Exotoxină α. Toxină produsă de *Clostridium perfringens*, o lecitinază.

Exsudat (lat. *exsudatio* asudare). Lichid albuminos, fibrinos, eventual hemoragic, ieșit din capilare într-un focar inflamator.

F

F1. Antigen capsular proteic al *Yersinia pestis*.

F1 și F2. Proteine de suprafață ale *Streptococcus pyogenes*, care funcționează ca adevărate la fibronectină.

Fab (engl. *Fragment antigen-binding*, fragment care leagă antigenul). Partea moleculei de imunoglobulină de la extremitatea NH₂ terminală care poartă cele două situsuri de recunoaștere a antigenului.

Factor col. Plasmid conjugativ care poartă informația genetică pentru sinteza unui pil sexual și a unei anumite bacteriocine.

Factor F. Cel mai simplu plasmid conjugativ; codifică numai structurile implicate în conjugarea bacteriană.

Factor R. Plasmid conjugativ care poartă informația genetică pentru sinteza unui pil sexual și a unui număr variat de enzime care inactivează anumite antibiotice.

Factori de creștere. Metaboliți esențiali (aminoacizi, baze purinice și pirimidinice, vitamine) pe care unele bacterii nu pot să-i sintetizeze, fiind necesari a fi prezenți în mediul de cultură.

Factorul α de necroză tumorală (TNFα). Citotoxină produsă de monocite și macrofage ca răspuns la endotoxină.

Factorul de elongare 2 (EF2). Proteină cu rol important în sinteza proteică, țintă a toxinei difterice și a toxinei A a bacilului piocianic.

Facultativ anaerobă. Bacterie care obține energia fie prin fermentație, fie prin respirație, funcție de absența sau prezența oxigenului.

Facultativ intracelular (ă). Bacterie care crește extracelular, dar și în macrofage grație rezistenței la enzimele lizosomale și inhibării formării fagolizosomului.

Fag ♂ Bacteriofag.

Fag β. Bacteriofag temperat purtător al genei care codifică toxina difterică.

Fag λ. Bacteriofag temperat cu caracter episomal, care se integrează între operonii *gal* și *bio*.

Fag Mu. Mic profag care se integrează aleatoriu în gene ale cromosomului bacterian producând o mutație cu pierdere de structură.

Fagocit (gr. *phagein* a mânca; *kytos* celulă). Termen general utilizat pentru a desemna celulele, fixe (celulele sistemului reticuloendotelial) sau mobile (granulocite polinucleare, monocite)

capabile de a fagocita.

Fagocitoză (gr. *phagein* a mânca; *kytos* celulă; *osis*, condiție, stare). Proces prin care se realizează internalizarea și degradarea particulelor introduse în citoplasmă.

Fagolizosom (gr. *phagein* a mânca; *lysis* distrugere; *soma* corp). Corpuscul rezultat din fuziunea unui fagosom cu un lizosom.

Fagosom (gr. *phagein* a mânca; *soma* corp). Vacuolă intracitoplasmatică rezultată prin invaginarea membranei citoplasmice în cursul fagocitozei; conține particulele fagocitate.

Falsă membrană. Depozit membranos, gălbui, friabil pe amigdale sau pe mucoasa colonului inflammat. Sin. pseudomembrană.

Faringită (gr. *pharynx* faringe; *-ită*). Inflamația faringelui.

Farmacocinetică (gr. *pharmakon* remediu; *kinetikos*, care se mișcă). Studiul diferitelor etape ale metabolismului medicamentelor în organism: resorbție, distribuție, transformări ale medicamentelor, eliminare.

Farmacodinamie (gr. *pharmakon* remediu; *dynamis*, acțiune, forță). Studiul acțiunii medicamentelor asupra organismului, ca și mecanismele acestei acțiuni.

Fasciita necrozantă. Infecție distructivă a plăgilor cauzată de anumite tulpini de *Streptococcus pyogenes*.

Fastidioasă. Bacterie care necesită prezența în mediu a numeroși factori de creștere.

Fază, variație de. Control al exprimării alternative, niciodată sincrone, a unor gene bacteriene care codifică aceeași structură, diferită doar antigenic. Antigenul H al salmonelilor are variație de fază.

Fc (fragment cristalizabil). Porțiunea de lanț greu (H) dinspre extremitatea -COOH terminală a moleculei de imunoglobulină, formată din ultimele două sau trei domenii constante care, după digestia enzimatică, cristalizează; în funcție de clasa imunoglobulinelor, poartă situsuri citofile (de fixare pe receptori celulari), de activare a complementului și marcheri izotipici și alotipici.

Febră (lat. *febris* febră, friguri de la gr. *phobomai* eu tremur). Creșterea temperaturii centrale a organismului uman peste valoarea fiziologică, de maxim 37°C. Deoarece există variații fiziologice în jurul acestei valori (în funcție de vârstă, în sarcină

etc.), practic starea febrilă se consideră a fi peste 38°C. Pentru temperaturi între 37° și 38°C se utilizează denumirea de stare subfebrilă.

Febră butonoasă. Rickettsioză din grupul febrilor pătate determinată de *Rickettsia conorii* transmisă de căpușe. Evoluează în zona mediteraneană, relativ benign cu erupție peteșială și o escară la poarta de intrare.

Febră de cinci zile ⚡ Febră quintană

Febră enterică. Infecție sistemică care evoluează ciclic, cu febră în platou, stare tifică, splenomegalie, erupție cu macule lenticulare pe baza toracelui și flancuri și semne de suferință intestinală. Este determinată de *Salmonella enterica* serovar Typhi (febra tifoidă) sau Paratyphi A,B,C (febrele paratifoide).

Febră de Malta. Bruceloza determinată de *B. melitensis*, cea mai gravă formă de bruceloză cu faza acută, bacteriemică, bine exprimată clinic. Sin.: febră undulantă.

Febră de Oroya (*Oroya* regiune în Peru). Stadiul acut al infecției cu *Bartonella bacilliformis* transmisă de flebotomul *Lutzomia verrucarum* din regiunea andină. Evoluează ca un sindrom febril, hemolitic cu mortalitate mare.

Febră pătată a Munților Stâncoși. Rickettsioză din grupul febrilor pătate determinată de *Rickettsia rickettsii* transmisă de *Ixodidae*. Evoluează cu erupție peteșială și mortalitate relativ mare.

Febră poloneză ⚡ Febră quintană

Febră de Pontiac. Boală febrilă nediferențiată determinată de *Legionella pneumophila* la gazde normoreactive.

Febră puerperală (lat. *puerpera* lăuză, de la *puer* copil, *parere* a naște). Infecție septicemică uterină *postpartum*; polietologică; în era prepasteuriană era frecventă și determinată mai ales de *Streptococcus pyogenes*.

Febră Q (engl. *query* întrebare, referire la necunoașterea inițială a agentului etiologic). Zoonoză determinată de *Coxiella burnetii*. La om se manifestă ca boală febrilă cu alură gripală, ca encefalită, ca hepatită, dar mai frecvent ca pneumonie interstițială; infecția cronică poate evolua ca endocardită. La animale infecția evoluează latent; numai la ungulate se reactivează în cursul sarcinii cu localizare în placentă, țesuturile fetale și uger.

Febră quintană (lat. *quintus* cinci). Boală infecțioasă cauzată de *Bartonella quintana* la persoane normoreactive și transmisă prin păduchi, rar prin alte artropode hematofage sau *Sarcoptes scabiei*. După o incubajie de 5-30 zile, evoluția este relativ benignă cu accese febrile la intervale de cinci zile, splenomegalie, dureri mai ales tibiale, ocazional exantem maculopapular. Sinonimele numeroase provin fie din manifestările clinice (febră tibialgică), fie epidemiologice (febră de

tranșee, febră de Wolhinia, febră poloneză etc. – referire la infestarea cu păduchi a soldaților în timpul Primului Război Mondial).

Febră de tranșee ⚡ Febră quintană

Febră de Wolhinia ⚡ Febră quintană

Febre hemoragice. Grup de boli grave determinate de robovirusuri și unele arbovirusuri. Evoluează cu trombocitopenie (frecvent și leucopenie), tulburări de coagulare și permeabilitate capilară responsabile de principalele simptome pe care le prezintă bolnavii: peteșii, echimoze, hemoragii nasale, gastrointestinale, uterine, șoc. Leziunile renale și hepatice concomitente agravează evoluția unora din aceste febre. Dintre arbovirusuri determină febre hemoragice: flavivirusuri sunt cauza febrei galbene (sindrom hemoragic, hepatic și renal), febrei hemoragice de Omsk; manifestări hemoragice apar și în reinfecțiile consecutive la scurt timp cu serotipuri diferite ale virusului Dengă (fenomene de sensibilizare); bunavirusuri determină febra hemoragică de Crimeea-Congo, febra hemoragică cu sindrom renal. Dintre robovirusuri, arenavirusurile Junin și Machupo determină febrele hemoragice sud-americane (argentiniană și respectiv boliviană), iar febrele hemoragice africane sunt determinate de un arenavirus (febra de Lassa).

Febril (lat. *febris* febră, friguri, de la gr. *phebomai* eu tremur). Care are febră.

Feed-back anticorp (engl. *feed* a se hrăni; *back* înapoi. „Conexiune inversă” sau „controlul reacției prin produs final”). Mecanism supresor al anticorpogenezei prin fixarea anticorpilor, mai ales IgG, pe determinanți antigenici expuși pe suprafața macrofagelor, ceea ce inhibă activarea unor noi limfocite B.

Fenotip (gr. *phainein* a apărea; *typos* tip, model).

1. Ansamblul caracterelor observabile fizice, biochimice și fiziologice, care corespund expresiei genotipului, dar și unor condiții determinate de mediul exterior. 2. Expresia unei singure gene sau a unei perechi de gene.

Fenotipică, variație. Reprezintă modificarea unuiu sau mai multor caractere fenotipice pentru adaptarea unei populații bacteriene cu același genotip la condiții schimbate de mediu; nu se transmit ereditar și dispar o dată cu condiția care le-a indus.

Fereastra imună. Perioada între 2 și 4 luni de viață a sugarului când anticorpii materni IgG transmiși transplacentar sunt deja catabolizați, dar sugarul nu are încă experiența antigenică pentru a-și elabora proprii anticorpi la titruri protectoare.

Feritină (lat. *ferrum* fier; *-ină* sufix care desemnează o substanță a cărei natură este diferită de rădăcina cuvântului). Proteină de stocare a fierului în țesuturi. Rezultă din unirea fierului cu apoferitina.

Feromon (gr. *pherein* a purta; *hormon* excitat). Termen ce definește o serie de „sociohormoni” sau „ectohormoni”, substanțe secretate de animale și care influențează comportamentul sau dezvoltarea altor indivizi din aceeași specie sau chiar familie. Feromoni primitivi controlează conjugarea cocilor gram-pozitivi (e.g., a enterococilor).

Fibră axială ☞ Axiale, filamente.

Fibronectină (lat. *fibra* fibră; *nectere* a uni). Glicoproteină ubicuitară în organism, care intervine în: adeziunea intercelulară, migrarea celulară, organizarea topografiei țesuturilor, transformarea malignă, cicatrizare.

Fibronectină, proteină de legare la. Proteine superficiale din structura streptococilor și stafilococilor care funcționează ca liganzi la fibronectină.

Fibroza chistică. Boală familială cu transmitere autosomal recesivă, caracterizată printr-o disfuncție generalizată a glandelor exocrine (creșterea vâscozității secrețiilor mucoase: bronșice, digestive) și de o concentrație crescută de sodiu și clor în sudoare. Evoluează cu fibroza chistică a pancreasului și plămânilor. Se manifestă de la naștere prin scaune abundente, grăsoase, uneori ocluzie intestinală la nou-născut, infecții respiratorii favorizate de bronșiectazii. Defectul genetic este reprezentat de mutații ale genei CFTR (*cystic fibrosis transmembrane regulator*) care codifică o proteină canal ionic pentru clor, situată la polul apical al celulelor epiteliale glandulare. Sin. mucoviscidoza.

Filogenie (gr. *phylon* trib, specie; *genesis* producere). Evoluția speciilor vii în mod continuu și progresiv, după un determinism incomplet elucidat.

Fimbrii (lat. *fimbriae* franjuri). Organite filamentoase, rigide, mai scurte decât flagelii, dispuse peritrich cu rol în aderență. Sin. pili comuni.

Flagel (lat. *flagellum* bici). Organit de locomoție, filamentos, lung și flexuos, al unor bacterii și protozoare.

Floră microbială. Termen impropriu pentru microbiota indigenă (bacteriile, fungii, protozoarele nu fac parte din regnul vegetal).

Flotantă, microbiota. Cuprinde microorganismele care contaminatează și colonizează abortiv (ore, zile, săptămâni) și superficial învelișurile și cavitățile cele mai expuse ale gazdei.

Fluctuațiilor, test. Experiment prin care S.E.Luria și M. Delbrück au demonstrat în 1943 natura spontană și aleatorie a mutației, adică independența factorilor mutageni de factorii presori selectivi prin care reperăm o mutantă în populația parentală. În esență: Când volume egale dintr-o cultură de *Escherichia coli* cu cca 10^9 UFC/mL erau dispersate pe plăci de agar nutritiv coafate cu un

anumit bacteriofag (fag), pe fiecare placă apărea un număr mic de colonii rezistente la acel fag, puțin diferit de la o placă la alta. Când însă inocule cu aproximativ 10^7 UFC din aceeași cultură bacteriană erau însămânțate într-o serie de 50 tuburi cu bulion și incubate până la concentrația de cca 10^9 UFC/mL apoi, în condiții similare primului experiment fiecare cultură era dispersată pe plăcile de agar coafate cu același fag, au observat o *fluctuație mare* între numărul coloniilor rezistente de pe fiecare placă. De unde concluziile că în diferite culturi ale aceleiași bacterii mutația este spontană (cultura nu a avut nici un contact cu factorul presor selectiv, fagul la care era sensibilă populația parentală) și aleatorie (mutante rezistente pot să apară și față de alți fagi indicatori); cu cât mutația survine mai precoce cu atât crește proporția celulelor rezistente în acea populație.

Fluorochinolona. Antibiotic care aparține grupului chinolonelor.

Folicul (lat. *folliculus* săculeț). Mică formațiune anatomică cu aspect de sac. E.g., folicul pilos.

Foliculită (lat. *folliculus* săculeț; *-ită* inflamație). Inflamația foliculului pilos.

Forezie (gr. *phoresis* transportare). Asociere fizică, întâmplătoare, neobligatorie a două organisme într-o simbioză. Lipsită de orice influență uni- sau bilaterală între consorți, efectul foreziei este transportul organismului mai mic de către cel mai mare. Așa este transportul microorganismelor pe picioarele muștelor ori mâinile contaminate (proprie, ale personalului sanitar ș.a.).

Fosfolipază (gr. *phos*, *photos* lumină, fosfor; *lipos* grăsime; *-ază*). Enzimă care hidrolizează fosfolipidele. Sin.: lecitinază.

Fosfomicină. Antibiotic care inhibă conversia N-AcG la N-AcM în prima etapă de sinteză a peptidoglicanului.

Fucsină (Etimologie incertă: 1. *L. Fuchs*, botanist bavarez, sec. XVI, care a dat numele său unei plante cu flori roșii; 2. germ. *Fuchs*, vulpe, deoarece chimistul Verguin, care a obținut substanța, lucra în serviciul industriașului lyonez Renard [vulpe, în fr.]). Colorant roșu, pe bază de anilină, utilizat în bacteriologie și histologie.

Fung (lat. *fungus* ciupercă). Organism eucariot microscopic. Apare sub formă de filamente care se întretes într-un miceliu (mucegaiurile) sau ca celule ovale, înmugurite (levurile). Unii fungi sunt patogeni, determinând boli numite generic, micoze.

Fungemie (lat. *fungus* ciupercă; gr. *haima* sânge). Prezența de fungi în sânge.

Furuncul (lat. *furunculus* nodul din care iese un lăstar). Infecție cutanată piogenică, localizată în jurul unui folicul pilos, sub formă de nodul dureros cu localizare dermică și extensie hipodermică. La suprafață se prezintă ca un burbion gălbui, înconjurat de un halou roșu cu tumefacție locală.

G

Gangrenă (lat. *gangraena*, din gr. *gangraina*, a putrezi). Necroză tisulară determinată fie de întreruperea aportului sanguin, fie de o tulburare neurotrofică, la care se poate adăuga sau nu o infecție.

Gastrită (gr. *gastros* stomac; *-ită* de la gr. *itis* inflamație). Inflamația mucoasei gastrice.

Gază-parazit interacțiune ☞ Simbioză, comensalism, mutualism, parazitism, forezie

Genom (gr. *genos* neam, generație sau *gennan* a produce; *soma* corp). Suma genelor unui organism. La celulele eucariote sunt cuprinse în cromosomi. La cele procariote într-un unic cromosom și în elementele genetice accesorii: plasmide și episomi.

Genotip (gr. *genos* neam, urmaș; *typos* tip, model).

1. Totalitatea informației genetice a unui organism.
2. Uneori, alelele cu unul sau mai mulți loci specifici.
3. Tipurile de specii aparținând unui anumit gen.

Genotipică, variația. Este o modificare bruscă, transmisibilă ereditar, a unui sau mai multor caractere ale unui individ.

Gentamicină. Antibiotic aminoglicozidic.

Germenilor, teorie a. Inițial ipoteză care susținea că bolile contagioase sunt determinate de entități minuscule (*seminaria morbi*, germeni, în viziunea lui Girolamo Fracastoro; *particule cadaverice*, în cea a lui Semmelweis). A devenit teorie când Robert Koch a confirmat-o în celebrul memoriu din 1876 asupra etiologiei antraxului.

Germ free, animale versus animale convenționale. Animale născute aseptice prin cezariană și crescute în condiții aseptice. Animalele supuse contaminării și colonizării microbiene normale sunt numite animale convenționale.

Germinare (lat. *germen* sămânță, germen). 1. Bot. Dezvoltarea embrionului dintr-o sămânță, care pune capăt vieții latente sau anhibridării. 2. Bact. Proces prin care endosporul bacterian, hidratat, crește în volum, își rupe învelișurile și trece de la viața latentă la cea vegetativă.

Glican. Structură fibrilară a peptidoglicanului (☞ acest termen) rezultată prin înlănțuirea alternativă de N-acetil glucozamină (NAG) și acid N-acetil muramic (NACM).

Glicocalix (gr. *glykys* dulce; *kalyx* înveliș). Înveliș alcătuit din polizaharide, glicoproteine și glicolipide la exteriorul membranei plasmactice a celulelor eucariote și a peretelui la celulele procariote.

Glicopeptide (gr. *glykys* dulce; *peptos* digerat, copt). 1. Heteroproteine rezultate prin legarea covalentă a unui lanț peptidic și mai multe grupări ozidice, alcătuite din 10-15 reziduuri de oze (mai ales galactoză și manoză). O serie de hormoni, enzime, antigene, receptori membranari sunt glicopeptide. 2. Clasă de antibiotice formată din

heptapeptide cu cinci cicli aromatici, un dizaharid (glucoză+vancosamină) și resturi de aminoacizi. Inhibă sinteza peretelui bacterian.

Glomerulonefrită acută (lat. *glomerulus* dim. de la ghem; gr. *nephros* rinichi; *-ită* de la gr. *itis* inflamație). Inflamație acută a glomerulilor renali.

G_{M1}. Rest de acid sialic al unui tip de ganglioziide din glicocalixul enterocitelor. Este receptor specific pentru toxina holerică.

GNA ☞ Glomerulonefrită acută

Golgi, aparat. Organit celular din apropierea nucleului, care procesează proteinele în vederea excreției.

Gomă (lat. *gummi* sau *gommi*, gr. *kommi*, substanță vâscoasă, gumă). Leziune inflamatorie subacută a hipodermului, bine delimitată, care evoluează în patru stadii: cruditate (faza de constituire), ulcerare, evacuare și reparație (prin cicatrizare scleroasă).

Gonococ (gr. *gone*, *gonos* sămânță, naștere, origine, generație; aici cu sensul de spermă; *kokkos* boabă). Bacterie denumită științific *Neisseria gonorrhoeae*, este un diplococ gram-negativ; agentul etiologic al blenoragiei.

Gonoree (gr. *gone*, sămânță genitală, urmaș; *rhoia*, curgere). Infecția cu transmitere sexuală determinată de *Neisseria gonorrhoeae* la bărbat. Termenul nu poate fi extins la infecția femeii. Mai corect este termenul de blenoragie.

Gram, colorație (*Hans C.J. Gram*, medic danez 1853-1938). Colorație diferențială a bacteriilor, care după expunere la violet de metil sunt mordanțate cu soluție Lugol, apoi sunt decolorate cu un amestec alcool-acetonă și recolorate cu fucsină. Bacteriile gram-pozitive, rezistă la decolorare și rămân mov. Bacteriile gram-negative se decolorează și devin roșii după recolorare.

Granulocitar, sistem celular. Linie celulară a măduvei hematogene din care evoluează granulocitele.

Granulocit (lat. *granulum* dim. de la *granum* grăunte; gr. *kytos* celulă). Leucocit matur, cu nucleu polilobat și granulații cu afinitate tinctorială diferită (neutrofile, bazofile, eozinofile).

Granulom (lat. *granulum* dim. de la *granum* grăunte; *-oma* sufix cu sensul de tumoră). Inflamație cronică, cu aspect histopatologic particular: în centru celule gigante multinucleate, rezultate din fuziunea macrofagelor, înconjurate de celule epitelioide, iar la periferie o coroană de limfocite.

Granulomatosi infantiseptica (lat. *granulum* granulă, granulație; gr. *osis* condiție, stare; lat. *infans*, *-ntis* copil; lat. *septicus*, gr. *septikos* care face să putrezească). Manifestare a infecției congenitale cu *Listeria monocytogenes* particularizată prin leziuni granulomatoase

necrotice diseminate predominant în ficat, septicemie, meningită.

Grup A streptococi. În sistemul de grupare Lancefield, streptococi care au antigen de grup A; cuprinde o singură specie: *Streptococcus pyogenes*, streptococ piogen uman.

Grup B streptococi. În sistemul de grupare Lancefield, streptococi care au antigen de grup B; cuprinde o singură specie, *Streptococcus agalactiae*, care infectează ocazional și omul, mai ales nou-născuții și adulți imunosupresați. La animale este una din principalele cauze ale mastitei bovinelor.

Grup C streptococi. În sistemul de grupare Lancefield, streptococi care au antigen de grup C.

Cuprinde specii piogene animale (*S. equi* cu subsp. *Equi* și *zooepidemicus*, *S. equisimilis* prin subsp. *dysgalactiae*) și umane (*S. equisimilis* prin subsp. *equisimilis*). Streptococul *zooepidemicus* determină ocazional infecții grave la om.

Grup D streptococi. În sistemul de grupare Lancefield, streptococi care au antigen de grup D. sunt găzduiți de animale. *Streptococcus bovis* este ocazional izolat și de la om.

Grup G streptococi. În sistemul de grupare Lancefield, streptococi care au antigen de grup G.; cuprinde o singură specie piogenă animală, *S. canis*, care infectează ocazional și omul.

H

H, antigen (germ. *Hauch* abureală, vâl, suflu, eflorescență; bacteriologii germani au constatat că o enterobacteriacee mobilă cultiva formând un vâl la suprafața mediului). Antigenul flagelar al bacililor gram-negativi; are specificitate de serotip.

Haptenă (gr. *haptein* a prinde, a atașa). Moleculă cu greutate moleculară mică, ce poate reacționa specific cu anticorpul, dar nu poate induce sinteza acestuia (deoarece are nevoie de o proteină transportoare).

HeLa, celule (de la numele bolnavei *Henrietta Lack*, operată în 1951 de un adenocarcinom al uterului și ale cărei celule au fost puse în cultură de Gey, Coffman și Kubicek). Linie de celule epiteliale derivate dintr-un carcinom cervical, dezvoltată începând din 1952 și utilizată foarte frecvent pentru izolarea a numeroase virusuri. Au o capacitate de proliferare considerabilă.

Hemaglutinare (gr. *haima* sânge; lat. *agglutinare* a lipi, a uni). Aglutinarea hematiilor sub acțiunea fie a unei hemaglutinine specifice (reacție antigen-anticorp), fie a unor hemaglutinine bacteriene sau virale, fie a unor lectine ca fitohemaglutinina.

Hemaglutinare pasivă. Reacție în care un anticorp aglutinează hematiile coafate cu antigenul omolog.

Hemaglutinină (gr. *haima* sânge; lat. *agglutinare* a lipi, a uni;). 1. Anticorp care provoacă hemaglutinare. 2. Produs de origine bacteriană sau virală care generează aglutinarea hematiilor. 3. Lectină dotată cu aceeași proprietate.

Hemaglutinină filamentoasă. Adezină produsă de *Bordetella pertussis*; purificată, intră în compoziția vaccinului acelular anti-pertussis.

Hemato-encefalică, barieră (fr. *barrière* din galeză *barro* extremitate, vârf; gr. *haima* sânge; *enkephalos* creier, de la *en* în, *kephale* cap). Denumire a caracteristicilor capilarelor cerebrale care prezintă o permeabilitate extrem de restrictivă, datorită căreia se previne pătrunderea unor

substanțe din sânge în creier și lichidul cefalorahidian. Spre deosebire de capilarele obișnuite, la nivelul cărora celulele endoteliului capilar prezintă joncțiuni deschise de tip *gap*, celulele endoteliale ale capilarelor cerebrale prezintă joncțiuni impermeabile. Ca urmare, trecerea substanțelor în creier este controlată strict, deoarece se produce la nivelul membranelor celulelor endoteliale. În definirea barierei hemato-encefalice trebuie luate în considerare două structuri pericapilare, membranele bazale și manșonul de celule componente ale nevrogliei, îndeosebi astrocitele.

Hemină (gr. *haima* sânge;). Clorhidrat de hematină, rezultat prin încălzirea oxihemoglobinei cu acid acetic glacial și o cantitate mică de clorură de sodiu. Cristalele de hemină sau cristalele Teichmann, reprezintă în medicina legală un test de decelare a sângelui în petele suspecte.

Hemoglobină (gr. *haima* sânge; lat. *globus* glob). Proteină globulară, formată din patru subunități. Fiecare subunitate conține o moleculă de hem legată la un lanț polipeptidic. Prezintă în hematii, are rolul de a transporta oxigenul.

Hemolizină (gr. *haima* sânge; *lysis* distrugere). Substanță toxică, de origine bacteriană, sau animală, care provoacă distrugerea hematiilor.

HEp-2, celule. Linie de celule derivată din celule epiteliale umane.

Herpes (gr. *erpes*, lat. *herpes*, *-etis* pecingine). Boală acută a pielii și mucoaselor determinată de virusul *Herpes simplex*, caracterizată printr-o erupție de vezicule grupate în buchet pe o bază inflamată și precedată de o senzație de arsură.

Herpes zoster (gr. *erpes*, lat. *herpes*, *-etis* pecingine; gr. *zoster*, centură). Boală infecțioasă produsă de reactivarea infecției persistente cu virusul varicela-zoster în condiții de stres sau imunodepresie. Apare ca o erupție veziculoasă,

foarte dureroasă, pe dermatomul nervului corespunzător ganglionului nervos infectat persistent. Numele bolii vine de la dispoziția sub formă de centură în lungul unui nerv intercostal. Sinonimul folosit uneori, zona zoster, este un pleonasm (gr. *zoster* centură; lat. *zona* centură).

Heterogenă, rezistență. Într-o cultură de stafilococi gena mutantă *mecA*, care codifică rezistența la metilicină, este prezentă într-un număr limitat de celule, care sunt selectate sub acțiunea metilicinei. Pentru depistarea heterorezistenței la metilicină a stafilococilor antibiograma trebuie făcută pe medii cu 4% NaCl și incubată la 35° C, condiții în care este favorizată creșterea cocilor purtători ai genei *mecA*.

Heterogenie, ipoteză (gr. *heteros* diferit, altul; *genos* gen, fel). Variantă a ipotezei generației spontane. După experimentul lui Francesco Redi (cca 1650), care a infirmat ipoteza aristotelică a generației spontane, Buffon susținea că animalculii văzuți prin microscop apar spontan în bulionul de carne.

Hexonă. Capsomer al fețelor și muchiilor capsidelor virale icosaedrice, care este înconjurat de șase capsomere identice.

Hfr (*High frequency of recombination*). Clone bacteriene cu factorul F integrat în cromosom. În cursul conjugării transferă gene cromosomale.

HGE ☞ Ehrlichioza granulomatoasă umană

Hialuronic, acid. Mucopolizaharid component al glicocalixului celulelor animale; formează cimentul intercelular.

Hidrică, infecție. Infecție transmisă prin apă.

Hidrogen peroxid ☞ Peroxid de hidrogen

Hidroxiamat. O clasă de siderofori bacterieni.

Hidroxil, radical. Formă reactivă a oxigenului (HO⁻) cu efect bactericid.

Hipersensibilitate ☞ Sensibilizare

Hipocloros, acid. Formă reactivă a clorului cu efect bactericid.

Hipotensiune (gr. *hypo*, mai puțin; lat. *tensio*, întindere). Scăderea presiunii arteriale sistolice sub 100 mmHg.

Histamină (gr. *histos* țesătură, țesut; *ammoniakon* sare de amoniu găsită în apropierea templului lui Jupiter *Ammon* din Libia). Mediator chimic secretat de polinuclearele bazofile și de mastocite, stocat în granulațiile acestora și eliberat în reacțiile inflamatorii și alergice. Efecte: bronhoconstricție, vasodilatație, creșterea permeabilității vasculare stimulează secreția acidă gastrică.

Holeră (Etimologie discutată: 1. gr. *khole* bilă; *rhein* a curge; 2. gr. *kholera* jgheab, șanț, aluzie la scurgerea neîncetată a evacuărilor – după Littré; 3. ebraică *cholira* boală grea – după Desnos). Toxiinfecție cauzată de *Vibrio cholerae*, manifestată clinic prin diaree severă, cu scaune apoase, cu flocoane de mucus, fără reacție inflamatorie și pierderi hidroelectrolitice importante. Bolnavii nu prezintă febră.

Holeriform, sindrom. Sindrom diareic asemănător celui din holeră.

I

Iatrogen (gr. *iatros* medic; *gennan* a produce). Rezultat din activitatea medicului. Se numesc astfel tulburările apărute la bolnav ca urmare a tratamentului medical sau chirurgical.

IFN ☞ Interferon

IgA. Clasă importantă de imunoglobuline, non fixatoare de complement, partajate între sângele circulant (IgA serice, formă monomer) și secrețiile mucoaselor (IgA secretor, formă dimerică). IgA serice complexează, în circulația portă hepatică, antigene alimentare absorbite din tubul digestiv; cele secretorii se constituie în bariera imună a epiteliilor secretorii.

IgE. Clasă citofilă de Ig monomere. Se fixează pe receptori ai mastocitelor și granulocitelor bazofile. Reacția lor cu antigenul omolog este semnal pentru degranularea acestor celule cu eliberarea de mediatori ai șocului anafilactic.

IgG. Clasă de imunoglobuline serice monomere, aflată în concentrația cea mai mare în mediul intern. Traversează bariera placentară asigurând protecția

imună a fătului, nou-născutului și sugarului în primele două luni de viață. Anticorpi ai răspunsului imun secundar, sunt implicate în principal în reacții de neutralizare a toxinelor și virusurilor, în reacții de bacterioliză prin complement și în opsonizare directă (fagocitele au receptori pentru Fc al IgG) și via C3b.

IgM. Clasă de imunoglobuline serice pentamerice. Sunt anticorpi ai răspunsului imun primar, nu traversează bariera placentară. Nu sunt implicați în reacțiile de neutralizare, dar sunt cei mai eficienți anticorpi bacteriolitici și opsonizanți via C3b. Contribuie în măsură mică la formarea barierei imune a epiteliilor secretorii.

IL-1 și IL-6. Interleukinele 1 și 6 sunt citokine produse de monocite și macrofage; normal reglează activitățile celulelor sistemelor de apărare ale organismului; produse în exces induc semnele șocului septic.

IL-2. Interleukina 2, citokină produsă de limfocitele T; stimulează proliferarea celulelor T;

produse în exces determină grețuri, vărsături, stare de rău, febră.

IL-3. Interleukina 3, citokină care stimulează eliberarea din măduva hematogenă a monocitelor și polimorfonuclearelor neutrofile.

IL-8. Interleukina 8, citokină care stimulează activitatea monocitelor și granulocitelor de a părăsi curentul sanguin și de a se îndrepta spre focarul infecțios.

Impetigo (lat. *impetigo* eczemă, de la *impetere* a ataca). Infecție a epidermei frecventă la copii, caracterizată prin formarea de pustule prin ruperea cărora se eliberează un lichid generator de cruste gălbui, care acoperă ulceratii de culoare roșie. Impetigo se localizează îndeosebi la nivelul feței și a mâinilor. Boala este contagioasă, fiind determinată de streptococi, stafilococi sau asociația celor două bacterii.

Imun, sistem. Ansamblu de elemente și modalități prin care organismul se apără împotriva agresiunilor antigenice externe.

Imunitate (lat. *immunitas* în dreptul medieval, scutirea vasalilor de anumite obligații către suzeran). Capacitatea dobândită a unui organism de a se apăra contra unei infecții sau, generalizând, împotriva agresiunii antigenice (înțeleasă ca pătrundere ori apariție a unei substanțe străine în mediul intern).

Imunitate activă. Imunitate care implică stimularea răspunsului imun ca urmare a unei infecții sau vaccinări.

Imunitate artificială. Imunitate instalată după vaccinare sau injectare de anticorpi.

Imunitate celulară. Imunitatea mediată de limfocitele T antigen specifice.

Imunitate naturală. Imunitate instalată după o infecție, transplacentar ori prin lapte matern.

Imunitate pasivă. Imunitate care nu implică răspunsul imun. Este asigurată prin anticorpi preformați în alt organism, care sunt injectați, transmiși transplacentar ori prin lapte matern.

Imunitate umorală. Imunitatea mediată de anticorpi.

Imunoelectroforeza (lat. *immunis* scutit, apărut; gr. *elektron*, chihlimbar, corp care se electrizează prin frecare; *phoresis*, transportare). Metodă de analiză a proteinelor din lichide biologice (îndeosebi plasmă sau ser sanguin) prin asocierea electroforezei cu imunodifuzia. Proteinele sunt separate mai întâi prin electroforeză în gel de agaroză, apoi se depune, paralel cu sensul de migrare a proteinelor, un imunoser (antiser). Proteinele și anticorpii corespunzători vor difuza fiecare în gel, iar dacă o anumită proteină (antigen) va întâlni anticorpul specific va rezulta un arc de precipitare, ca urmare a reacției antigen-anticorp. În acest mod pot fi separate diferite proteine distincte antigenic.

Imunogen (lat. *immunis* scutit, apărut; gr. *gennan*

a produce). Care este apt să determine un răspuns imun.

Imunoglobuline (lat. *immunis* scutit, apărut; *globulus* dim. de la *globus* glob). Clasă heterogenă de proteine serice, care migrează electroforetic în principal cu fracțiunea γ globulinică. Au structură tetracatenară rezultată prin asocierea a două tipuri de lanțuri polipeptidice: două lanțuri ușoare L (engl. *light* ușor) și două lanțuri grele H (engl. *heavy* greu) legate între ele prin punți disulfidice și covalent, după formula L–H–H–L. Abrevierea uzuală Ig.

Incluziuni celulare (lat. *includere* a include). Structuri care apar în citoplasma sau nucleul unei celule din diferite cauze. 1. Incluziuni bacteriene: nutrienți de rezervă polimerizați în citoplasma bacteriană (e.g., corpusculii Babeș-Ernst, incluziuni de polimetafosfat care se colorează maticromatic). 2. Incluziuni chlamidiale: microcolonii care apar intracitoplasmic în ciclul de înmulțire a chlamidiilor, observate pe preparate colorate Giemsa sau imunofluorescent. 3. Incluziuni virale: acumulări de virioni sau de componente virale în aria de replicare și asamblare a virusurilor (citoplasmă, nucleu), urmărite curent prin colorație cu hemalaun-eozină, Giemsa sau imunofluorescent.

Incubare. Menținerea mediilor de cultură în condiții optime pentru dezvoltarea unei culturi bacteriene (temperatură, atmosferă).

Inducție (lat. *inductio* introducere). 1. Genetică moleculară. Reglare a sintezei enzimatică în care o substanță inductoare (substrat enzimatic) se leagă de represor și îi reduce afinitatea pentru operator, ceea ce permite transcrierea genelor structurale în ARNm și declanșarea amplificată a sintezei enzimelor corespunzătoare. 2. Inducția fagică. Trecerea profagilor în stadiul de fag vegetativ, care generează fagi maturi. 3. Embriol. Proces care controlează diferențierea celulelor embrionare într-un sens determinat.

Infecție (lat. *infectus* de la *inficere*, a strica, a otrăvi). Pătrunderea în organism a unui agent patogen (virus, bacterie, fung, parazit) capabil să se multiplice și să inducă leziuni.

Infecție acută. Infecție cu evoluție rapidă, de durată scurtă. Histopatologic caracterizată prin infiltrat inflamator cu PMN.

Infecție cronică. Infecție cu evoluție lentă, de lungă durată. Histopatologic caracterizată prin infiltrat inflamator dominat de macrofage.

Infecție de spital ☞ Nosocomială, infecție

Infecție endogenă. Infecție determinată de microorganisme ale microbiotei indigene care, în condiția unei deficiențe a apărării antimicrobiene, au potențialul patogen necesar rușerii echilibrului anterior stabilit cu gazda.

Infecție exogenă. Infecție determinată de microbi patogeni care provin dintr-o sursă exterioară și ajung printr-o anume cale în organismul receptiv.

Infecție inaparentă. Infecție în care agentul infecțios determină leziuni minime, care nu perturbă homeostazia și ca atare nu determină simptome și semne de boală, ci doar răspuns imun. Persoanele cu infecție inaparentă sunt rezervor ocult, periculos, de infecție.

Infecție încrucișată (*cross infection*) ☞ Interioară, infecție

Infecție latentă (lat. *latens* ascuns). Persistența îndelungată și asimptomatică, în focare tisulare profunde, a microbilor care nu se multiplică (microbi „dormanți”). Spre infecție latentă evoluează rickettsiozele, sifilisul, primoinfecția tuberculoasă, unele viroze.

Infecție sporadică. Apariția ocazională a unui număr redus de îmbolnăviri la intervale neregulate de timp, diseminate teritorial și fără legătură între ele.

Infecțios. 1. Care produce o infecție sau o poate transmite. 2. Care este consecința unei infecții.

Infestare (lat. *infestare* a strica, a devasta, de la *infestus* dușmănos). Termen care, până recent, desemna pătrunderea unui parazit în organismul gazdei, prin analogie cu termenul de infecție, care se referea la bacterii și virusuri. În prezent, termenul infestare este folosit numai pentru artropodele ectoparazite, cel de infecție fiind utilizat atât pentru virusuri și bacterii, cât și pentru paraziți.

Inflamație (lat. *inflammatio* aprindere). Ansamblul reacțiilor organismului ca urmare a unei agresiuni de origine diversă (infecțioasă, chimică, fizică). Se traduce de regulă prin cinci semne clinice: *congestie, tumefiere, durere, hipertermie locală și alterarea funcției segmentului afectat.*

Inocul/inoculum (lat. *inoculare* a altoi, a implanta). Suspensie microbiană pe care o depunem (însămânțăm) într-un sistem de cultivare (medii artificiale de cultură, gazde vii).

Insertie, secvență ☞ Secvență de insertie

Integrază (lat. *integrare* introducere; sufixul -ază, de la gr. *-iassus* care desemnează acțiunea enzimatică). Enzima care controlează inserția unui episom în cromosom.

Interferență virală (lat. *inter* între; *ferre* a duce). Inhibarea replicării unui virus, în organism sau în culturi de celule, din cauza existenței unei infecții prealabile cu un alt virus.

Interferon (lat. *inter* între; *ferre* a duce). Glicoproteină cu masă moleculară mică produsă, într-o perioadă foarte scurtă, de celule infectate de virus. Interferonul inhibă multiplicarea virală prin blocarea sintezei acidului nucleic viral, fiind caracteristic speciei animale infectate, dar nu și virusului infectant. Producerea interferonului poate

fi declanșată, în afară de virusuri, și de diferite microorganisme, endotoxine microbiene sau ARN sintetic. Au fost identificate trei tipuri de interferon: α , β , γ .

Interferon (IFN) α și β . Interferoni produși de leucocite, respectiv fibroblaști, implicați în special în controlul infecțiilor virale.

Interferon γ . Produs de limfocitele T specific sensibilizate, este implicat în răspunsul imun la mai multe tipuri de agenți infecțioși.

Interioară, infecție. Infecție epidemică particulară colectivităților închise unde conviețuirea este strânsă prin multiple activități: dormit în încăperi comune, servitul mesei, utilizarea acelorași instalații tehnico-sanitare.

Interleukină (IL) (lat. *inter* între; gr. *leukos* alb; *kytos* celulă). Denumire pentru un grup multifuncțional de citokine produse de diferite celule fagocitare (îndeosebi macrofage) și limfocite. Acțiunea interleukinelor se exercită în cadrul sistemului limfopoietic.

Intimină. Proteină a membranei externe care mediază asocierea strânsă a tulpinilor ECET la enterocit.

Intracelular, facultativ ☞ Facultativ intracelular

Intracelular, obligat ☞ Obligat intracelular

Intraspitalicească, infecție ☞ Nosocomială infecție

Intron. Parte a unei gene care nu poartă informație genetică.

Invazină. Proteină a suprafeței bacteriene care provoacă endocitarea unei bacterii.

Invaziv (lat. *invasus* de la *invadere* a invada). Despre un proces care se extinde rapid în organism, îndeosebi în cazul unei boli infecțioase sau canceroase.

Iodoform. Complex dintre iod și un detergent.

In vitro (lat. *vitrum* sticlă; despre felul experimentării unui proces biologic). În afara organismului. *Sensu stricto* experiment într-un recipient de sticlă.

In vivo (lat. *vivus* viu; despre felul experimentării unui proces biologic). În organismul viu.

-ită (gr. *itis* inflamație). Sufix cu semnificația „inflamație”.

ITU. Infecția (-iile) tractusului urinar

Izbucnire epidemică. Manifestarea epidemică dintr-o colectivitate redusă (tabără, localitate rurală etc.).

Izolare. Procedeu prin care o bacterie este obținută în cultură pură.

Izoniazida. Antibiotic anti-micobacterian prin inhibarea sintezei acizilor micolici. Sin.: hidrazida acidului izonicotinic (HIN).

Î

Însămânțare. Depunere în/sau pe medii de cultură a unei cantități limitate de material bacterian

(inocul) reprezentat de un produs biologic sau o cultură.

K

K, antigen (germ. *Kapsel*, capsulă). Antigen capsular polizaharidic al enterobacteriaceelor; are specificitate de serotip.

K 1 antigen. Antigen al *E. coli* înrudit cu antigenele polizaharidice ale *N. meningitidis* grup B; factor particular de virulență pentru nou-născut. Datorită asemănării cu polisialozilglicopeptidele cerebrale la această vârstă este recunoscut ca substanță proprie (*self*) și gazda nu montează răspuns imun contra acestui antigen, așa cum o face mai târziu când concentrația polisialozilglicopeptidelor cerebrale scade.

Kaposi, sarcom. (*Moritz Kaposi*, dermatolog austriac, Viena, 1837-1902; gr. *sarx*, *sarkos*, carne; *-om*, sufix cu sensul de tumoră). Neoplazie malignă manifestată prin placarde angiomatoase de culoare roșie închisă, noduli duri, violacei, edem difuz și dureros, care apar inițial la extremități, invadând lent membrele și eventual corpul întreg, simetric. Uneori procesul invaziv se extinde la nivelul viscerelor și oaselor. Morfopatologic, sarcomul Kaposi se caracterizează printr-o proliferare reticulară la nivelul căreia se diferențiază secundar vase (reticuloză angiogenă). Boala este mortală în 2-10 ani, endemică în Africa Centrală, Europa Centrală și de Est, iar formele cele mai grave, cu extensie și diseminare rapidă, apar la pacienții imunodeficienti, în special în SIDA și la primitorii de transplant incompatibile imunitar.

Ketolide. Clasă de antibiotice asemănătoare macrolidelor cu 14 atomi de carbon.

Kirby-Bauer, metoda. Una dintre standardizările antibiogramelor difuzimetrice.

Koch-Henle, postulate. În număr de trei, fundamentează teoria germenilor. Au fost deduse din celebrele memorii ale lui Koch asupra etiologiei antraxului (1876) și infecțiilor posttraumatice (1878): (1) microorganismul care a determinat boala se găsește la toți bolnavii cu aceea boală răspândit în raport cu leziunile observate. (2) Acel microorganism poate fi izolat în cultură pură și subcultivat. (3) Cultura pură injectată la un animal de experiență induce boala și poate fi reizolat în cultură pură.

Koch, postulate moleculare. În număr de trei, au fost stabilite de S. Falkow și fundamentează genetic patogenitatea microorganismelor: (1) Fenotipul investigat trebuie să apară asociat tulpinilor patogene ale unei specii sau speciilor patogene ale unui gen. (2) Inactivarea specifică a genei (lor) care codifică structura de patogenitate suspectată duce la o pierdere cantificabilă a virulenței. (3) Reversia sau substituția alelică a genei mutante restaurează virulența.

Kupffer, celule (*Karl Wilhelm von Kupffer*, anatomist german, profesor la Kiel, Königsberg și München, 1829-1902). Constituente ale sistemului reticuloendotelial, celulele Kupffer căpтуșesc pereții sinusoidelor hepatice, au proprietăți fagocitare extrem de marcate asupra particulelor coloidale și asigură endocitoza unui număr de glicoproteine serice.

L

L, forme bacteriene (*L* sigla Institutului Lister din Londra unde Klineberger Nobel le-a descoperit). Bacterii cu perete defectiv care supraviețuiesc numai în medii de cultură protectoare (hipertone). Din cauza hernierii protoplastului și formării de sferoplaști sunt foarte polimorfe. În mediu osmotic protector își continuă diviziunea și pe medii agarizate formează microcolonii similare celor ale micoplasmelor. Pot fi reversibile sau ireversibile.

Lactoferină. Chelator de fier din secrețiile mucoaselor.

Lancefield, clasificare (antigenică). Pe baza specificității polizaharidului C din peretele streptococilor, Rebecca Lancefield a inițiat

clasificarea streptococilor în grupe antigenice numite cu litere majuscule ale alfabetului. Numărul grupelor antigenice ale streptococilor a ajuns la 20, A-H și K-W.

Langhans, celulă (*Theodor Langhans*, anatomopatolog german, profesor la Giessen, apoi la Berna, 1839-1908). Celulă cu masă protoplasmatică de formă neregulată, conținând un mare număr de nucleee. Se formează prin fuziunea mai multor celule epitelioide, care reprezintă macrofage metaplaziate ca urmare a unui deficit de imunitate celulară. Apare în diferite leziuni: din tuberculoză, lepră, bruceloză cronică, histiocitoză

X, boală Crohn, sarcoidoză, arterită temporală. Sin. celulă gigantă.

Laringită (gr. *larynx* laringe; -ită de la gr. *itis* inflamație). Inflamația acută sau cronică a laringelui.

Latentă, infecție ☞ Infecție latentă.

Latentă (lat. *latens* ascuns). Perioadă de inactivitate a unui agent infecțios, potențial pentru reactivarea infecției.

Lecitinază (gr. *lekithos* gălbenuș de ou). Enzimă care produce hidroliza fosfolipidelor. Sin. fosfolipază.

Lecitină (gr. *lekithos* gălbenuș de ou). Fosfolipid constituit dintr-o moleculă de acid fosfatidic în care una din funcțiile acid ale grupării fosfat este esterificată prin funcția alcool a colinei. Lecitina se găsește în membranele biologice. Este prezentă în toate țesuturile animale și vegetale, fiind în mod particular abundentă în gălbenușul de ou și țesutul nervos. Intră și în constituția lipoproteinelor circulante. Sin. fosfatidil-colină.

Lectine (lat. *legere* a culege). Proteine de origine vegetală, extrase în principal din leguminoase. Ele au situsuri stereo-specifice care permit să se lege specific la unele zaharuri. Cea mai mare parte dintre lectine au mai multe situsuri de fixare. Puse în prezența unei suspensii celulare, ele formează punți între celulele vecine și provoacă aglutinarea lor. Această proprietate a fost demonstrată mai întâi cu globulele roșii, de aceea lectinele se mai numesc fitohemaglutinine.

Leptospire (gr. *leptos* subțire, fin; *speira* spirală). Gen al spirochetelor.

Letală, toxină (lat. *letum* moarte; *toxikon* otrăvă pentru vârful săgeților, de la *toxon* săgeată). Componenta activă (A) din toxina *Bacillus anthracis*; determină eliberarea necontrolată de citokine din macrofage.

Leucocidină. Citotoxină letală pentru leucocite produsă de *Staphylococcus aureus* și alte bacterii.

Leucocit (gr. *leukos* alb; *kytos* celulă). Globul alb; celulă nucleată a sângelui circulant; distingem trei varietăți: granulocite sau polimorfonucleare, monocite și limfocite.

Liganzi ☞ Adezine

Limfangită (lat. *lymphā* apă limpede; gr. *angeion* vas; -ită). Inflamație a vaselor limfatice. Limfangitele acute sunt de regulă complicații ale plăgilor infectate, furunculozelor sau bursitelor. Etiologic sunt implicați: streptococi, stafilococi, pneumococi. Cel mai adesea sunt cuprinși și ganglionii tributar regiunii afectate.

Limfatici, ganglioni. Organe limfoide secundare capsulate, localizate pe traiectul vaselor limfatice. Conțin cele mai multe limfocite T și B ale sângelui periferic. Microorganismele și, în general, antigenele, antrenate de limfă sunt filtrate în ganglionii limfatici și inițiază răspunsul imun.

Limfă (lat. *lymphā* apă limpede). Lichid clar, galben pal, alcalin, care circulă în vasele limfatice sau care ocupă spațiile intercelulare. Limfă conține în mod normal limfocite și cuprinde aceleași substanțe ca și serul sanguin, dar în cantitate mai mică.

Limfocit (lat. *lymphā* apă limpede; gr. *kytos* celulă). Categorie de leucocite cu nucleu mare și citoplasmă foarte redusă, prezente în sânge, în măduvă și în țesuturile limfoide.

Limfocite B (lat. *lymphā* apă limpede; gr. *kytos* celulă; B, de la bursa lui Fabricius, anexă a tubului digestiv la păsări unde acest limfocit se diferențiază la păsări). Limfocit mic, care se diferențiază inițial în ficatul fetal, apoi în măduva hematogenă, specializat în producerea de imunoglobuline.

Limfocite T (lat. *lymphā* apă limpede; gr. *kytos* celulă; T, deoarece acest limfocit se diferențiază în timus). Categoria principală de limfocite, care provin din măduva osoasă și se diferențiază în timus, iar după maturare se află în organele limfoide secundare și în sânge. Acționează ca agenți ai imunității mediate celular și ajută limfocitul B în producerea de anticorpi.

Limfokină (lat. *lymphā* apă limpede; gr. *kinein* a mișca). Factor solubil eliberat de limfocite în timpul unui nou contact cu antigenul la care au fost sensibilizate și care declanșează reacția de imunitate mediată celular

Lincosamide. Familie de antibiotice care inhibă sinteza proteică prin fixare pe subunitatea ribosomală 50S a bacteriilor.

Linie celulară diploidă. Tulpină celulară provenită din țesuturi embrionare. Are morfologie și cariotip diploid normale. Poate fi subcultivată 40-50 de generații.

Linie celulară imortalizată. Tulpini celulare provenite din tumori maligne sau celule diploide transformate. Au morfologia alterată ca a celulelor canceroase, au pierdut inhibiția de contact, pot crește în suspensii. Rămân viabile după ce au fost congelate lungi perioade de timp. Subcultivă indefinit.

Lipid A ☞ Lipopolizaharid

Lipoarabinomanan. Glicolipid al peretelui micobacteriilor; suprimă activarea celulelor T.

Lipooligozaharid. Component, care formează stratul superficial al membranei externe a unor bacterii gram-negative; analog structural al LPS, dar are lanțul antigenic O mai scurt.

Lipopolizaharid. Component care formează stratul superficial al membranei externe a bacteriilor gram-negative. Are trei domenii structurale: proximal, format din lipidul A; miezul polizaharidic (antigenul R); distal, antigenul O, format din subunități oligozaharidice repetate de cca 25 ori.

Lipoteichoic, acid (gr. *teichos* perete). Structură specială a pereților bacteriilor gram-pozitive

legată covalent de glicolipide ale membranei citoplasmice și prin forțe ionice de peptidoglican.

Liză (gr. *lysis* distrugere). 1. Disoluția celulelor sau microorganismelor prin acțiunea unor agenți chimici, fizici sau biologici. 2. Sufix utilizat în compunerea termenilor ce desemnează degradarea substanțelor organice.

Lizogenă, bacterie. Bacterie care găzduiește un profag.

Lizogenie (gr. *lysis* distrugere; *gennan* a produce). Posibilitatea unui fag de a se menține sub o formă integrată (profag) în cromosomul bacterian fără să antreneze fenomenul litic. O eventuală activare a profagului, spontană sau printr-un agent inductor (e.g., radiații UV sau substanțe mutagene), se traduce prin liza celulei gazdă.

Lizogenic, bacteriofag. Profag care se replică sincron cu genomul celulei gazdă. Prin inducție este convertit la stadiul de fag vegetativ litic.

Lizogenică, conversie. Apariția unui nou caracter la bacteriile care găzduiesc un profag; acestea nu mai pot fi infectate cu același tip de fag.

Lizorezistentă, bacterie. Bacterie care rezistă acțiunii litice a unui fag fie pentru că nu are receptori, fie pentru că, după ce a adsorbit fagul, îl neutralizează intracelular printr-un represor codificat de profagul respectiv deja găzduit de bacterie.

Lizosensibilă, bacterie. Bacterie care după ce a adsorbit fagul îl replică și ca urmare este lizată.

Lizosom (gr. *lysis* distrugere; *soma* corp). Organite celulare cu morfologie și dimensiuni variabile, delimitate de o membrană lipoproteică, care conțin cca 40 enzime hidrolitice (hidrolaze acide: fosfataze, nucleaze, proteaze, polizaharidaze, lipaze); reprezintă sediul digestiei unor macromolecule, unor părți din celulă precum și a unor microorganisme fagocitate.

Lizotip ☞ Lizovar

Lizotipie (gr. *lysis* distrugere; *typos* tip, model). Procedeu de identificare a bacteriilor în funcție de sensibilitatea lor la diferiți bacteriofagi. Lizotipia este foarte utilizată în studiile epidemiologice, îndeosebi pentru salmonele, colibacili, stafilococi și bacili piocianici.

Lizovar. Clasificare a tulpinilor unei bacterii în raport cu sensibilitatea la anumiți bacteriofagi virulenți; important marker epidemiologic. Sin. lizotip.

Lizozim (gr. *lysis* distrugere; *zyme* ferment, drojdie). Enzimă care degradează peptidoglicanul prin ruperea legăturilor dintre N-acetil-glucosamină și acidul N-acetil-muramic. Face parte din echipamentul antibacterian al fagocitelor și umorilor omului și animalelor.

LOS ☞ Lipooligozaharid

LPS ☞ Lipopolizaharid

Lyme ☞ Boala Lyme

M

M, proteină ☞ Proteină M

Macrofag (gr. *makros* mare; *phagein* a mânca). Celulă uzual mononucleată, extravasculară, provenită din monocitele circulante și dotată cu capacități fagocitare. Joacă rol important în imunitate prin captarea și procesarea antigenelor.

Macrofag activat. Macrofag care are funcțiile intens stimulate, consecutiv semnalelor primite de la diverse citokine sau imunomodulatori.

Macrolide. Familie de antibiotice care inhibă sinteza proteică a bacteriilor prin legarea la subunitatea ribosomală 50 S. Au molecula formată dintr-un inel lactonic macrociclic cu 14, 15 sau 16 atomi de carbon.

Marginare (lat. *marginare* a mărgini, a tivi). Acolarea leucocitelor pe fața internă a pereților vasculari, în cazul unei încetiniri a circulației sanguine. Marginarea precedă și favorizează diapedeza.

Mastocit (germ. *Mast* aliment; gr. *kytos* celulă). Tip de histiocit prezent normal în țesutul conjunctiv din ganglionii limfatici, splină, măduva osoasă, corionul mucoaselor și derm. Are formă rotunjită sau poligonală, cu nucleu mare și neregulat și

granulații metacromatice cu dimensiuni variabile. Granulațiile au rol de sinteză a unor mediatori chimici (e.g., histamină, heparină, acid hialuronic). Mastocitul derivă din celule nediferențiate ale țesutului reticuloendotelial.

mecA, genă. Genă cromosomală (ocazional, plasmidică) a stafilococilor meticilino-rezistenți. Codifică proteina PLP 2a cu slabă afinitate pentru meticilină și alte peniciline M.

Mecanism de patogeneză ☞ Virulență factor

Mediu de cultură. Mediu lichid, semisolid sau solid care asigură necesități nutritive și condiții fizico-chimice (pH, osmolaritate) pentru creșterea și multiplicarea bacteriilor.

Memorie, celule cu. Limfocit T sau B diferențiat după contactul cu un anumit antigen. Sunt celule cu viață lungă care permit organismului un răspuns la al doilea contact cu acel antigen (e.g., microbial).

Meninge (gr. *meninx*, *-ingos* membrană foarte fină). Ansamblul celor trei formațiuni membranoase care înconjoară nevraxul (encefalul și măduva spinării), care sunt, de la exterior spre interior: dura mater și leptomeningele (alcătuit din arahnoidă și pia mater).

Meningită (*meninx*, -ingos membrană foarte fină; -ită). Denumire generică pentru inflamațiile acute sau cronice ale meningelor cerebrale sau medulare.

Meningococ. Denumire comună pentru *Neisseria meningitidis*.

Merozigot (gr. *meros* parte, diviziune; *zygos* a cupla). Bacterie parțial și temporar diploidă ca urmare a unui transfer genetic parțial de la o bacterie donatoare la una receptoare.

Metastază (gr. *metastasis* deplasare). În general, termen care denumește procesul de schimbare de sediu al unei boli, folosit pentru orice localizare secundară a unei boli benigne sau maligne, apărută ca urmare a deplasării unui produs patologic rezultat din leziunea primară. Localizarea la distanță reproduce de obicei, analog, leziunea primară. Se pot, deci, observa metastaze de natură microbiană, parazitară, tumorală.

Meticilină. Penicilină de semisinteză rezistentă la penicilinaza stafilococilor.

Meticilino-rezistenți stafilococi. Stafilococi purtători ai genei mutante *mecA* care codifică PLP 2a cu afinitate redusă pentru β-lactamine. Rezistența la metilicilină se însoțește și de rezistență la alte antibiotice. Multe tulpini sunt sensibile numai la vancomicină.

Metronidazol. Antibiotic care interferează sinteza acizilor nucleici; activ asupra unor protozoare și asupra bacteriilor anaerobe.

Mezofile (gr. *mesos* mijloc; *philos* prieten). Bacterii pentru care temperatura optimă de creștere este între 30-45°C.

Mezosom (gr. *mesos* la mijloc; *soma* corp). Invaginații ale membranei citoplasmice a bacteriilor.

Micolici, acizi. β-hidoxiacizi grași cu catenă lungă ramificată ce apar ca structuri speciale în perețele mai multor bacterii. Când catena acizilor micolici depășește 70 atomi de carbon, conferă bacteriilor acidorezistență (e.g., acidorezistența micobacteriilor).

Microaerofil (gr. *mikros* mic; *aer* aer; *philos* prieten). Despre un microorganism care poate crește doar la o presiune mică a oxigenului, inferioară celei atmosferice.

Microb ☞ Microorganism

Microbiocenoză (gr. *mikros* mic; *bios* viață; *koinos* comun). Asociație de microorganisme care habitează și transformă un biotop (☞ acest termen)

Microbiota indigenă. Microbiocenoze formate din bacterii nepatogene care sunt găzduite în situsuri specifice ale organismului. Constituie o unitate ecologică în echilibru dinamic cu condițiile de găzduire și cu noile microorganisme contaminante. Sin.: microbiota normală și, incorect, flora microbiană normală.

Microbiota flotantă. Este formată din microorganisme contaminante ale învelișurilor, care realizează colonizări abortive, temporare.

Microbiota normală ☞ Microbiota indigenă.

Microbiota rezidentă. Entitate ecologică formată din microorganisme implantate peren în anume condiții de găzduire.

Microorganism (gr. *mikros* mic; lat. *organum* gr. *organon*, instrument, parte a corpului îndeplinind o funcție precisă). Denumire generică pentru organismele unicelulare cu dimensiuni microscopice sau inframicroscopice. Acest termen include, de regulă, următoarele grupe de organisme: procariote (bacterii, alge albastre), eucariote (ciuperci unicelulare, alge unicelulare, licheni, protozoare), virusuri. Sin.: microb.

Microvili (gr. *mikros* mic; lat. *vilus* păr, blană). Expansiuni citoplasmice acoperite de membrana plasmatică; măresc suprafața de schimb a celulelor care le prezintă.

Mieloperoxidază (gr. *myelos* măduvă; lat. *per* prefix intensiv, utilizat în chimie pentru a desemna combinația în care un element are cea mai mare valoare a valenței sale; gr. *oxys* acru, oxigen). Enzimă prezentă în granulațiile celulelor granulocitare și monocitare; descompune H₂O₂ cu formare de oxigen molecular, care generează radicali microbicizi.

Miliară, tuberculoză (lat. *miliarius* referitor la mei, de la *milium* bob de mei). Formă de tuberculoză acută, generalizată pe cale hematogenă, caracterizată prin prezența în plămâni și în toate organele de granulații cenușii, de dimensiunea unui grăunte de mei.

Miringită (lat. *myringa* membrană, timpan; -ită). Inflamație a timpanului.

Mobilizabil, plasmid (lat. *mobilis* mobil; gr. *plasma* obiect modelat). Plasmide cotransferabile în cursul conjugării inițiate de un conjugon.

Monobactame. Clasă de antibiotice β-lactamice active printr-un nucleu monociclic.

Monocit (gr. *monos* singur; *kytos* celulă). Cel mai mare tip de leucocit, cu diametrul de 20-25 μm, cu citoplasma ușor bazofilă, conține granulații fine azurofile și un nucleu reniform voluminos. Reprezintă până la maximum 8% din numărul leucocitelor. Precursor imediat al numeroaselor tipuri de macrofage, monocitul posedă capacitate fagocitară și proprietatea de aderență la suprafețe umede.

Morbiditate (lat. *morbidus* bolnăvicios). 1. Caracterul a ceea ce este morbid; predispoziție la îmbolnăvire. 2. Indicator al stării de sănătate, rezultat din raportul dintre numărul bolnavilor și întreaga populație dintr-un anumit teritoriu, într-o anumită perioadă de timp. De obicei numărul de cazuri de boală se raportează la 100000 de locuitori.

Morbili (lat. medievală *morbili* rujeola). Rujeola

Morbiliform (lat. medievală *morbili* rujeolă, de la *morbus* boală; *forma*, formă). Element tegumentar care seamănă cu cel specific erupției cutanate din rujeolă.

Mortalitate (lat. *mortalitas*, pieire). Indice rezultat din raportarea numărului de decese dintr-o populație la totalul populației respective, pentru o anumită perioadă de timp, de obicei un an. Mortalitatea generală se exprimă prin numărul de decese la 1000 de locuitori; mortalitatea prin anumite boli, prin raportarea la 100000 de locuitori.

MRSA (engl. *Methicillin-resistant S. aureus*). Abrevierea în engleză a stafilococilor metilicilino-rezistenți.

Mucinază. Enzimă bacteriană care degradează mucina.

Mucină (lat. *mucus* mucus). Glicoproteină azotată prezentă în secrețiile glandelor mucoase, bogată în fucoză (fucomucină) sau în acid sialic (sialomucină). Mucinele nu sunt hidrolizabile prin enzime proteolitice și, de aceea, asigură o protecție eficientă a mucoaselor, îndeosebi a celor digestive.

Mucociliar, transport. Modalitate de apărare antimicrobiană a epitelilor columnare pseudo-stratificate ciliate (e.g., respirator, salpingian). Particulele impactate sunt eliminate prin mișcarea în sens unic a stratului de mucus antrenat de mișcarea cililor.

Mucoid (lat. *mucus*, mucus; gr. *eidos*, formă). Care se aseamănă cu mucina sau a cărui structură amintește pe cea a unei mucoase.

Mucoviscidoză ☞ Fibroză chistică

Mupirocină. Antibiotic activ contra tulpinilor SAMR; are ca țintă moleculară isoleucil-ARNt sintetaza; nu poate fi utilizat sistemic din cauza degradării rapide în mediul intern; utilizat în aplicație topică pentru sterilizarea purtătorilor nasali sănătoși de SAMR.

Mureină ☞ N-Acetil glucozamină

Mutagen (lat. *mutare* a schimba; gr. *gennan* a produce). Referitor la orice agent sau factor capabil să provoace o mutație genetică în cadrul unei specii. Principalii agenți mutageni sunt unele

substanțe chimice și o serie de factori fizici, îndeosebi radiațiile ionizante.

Mutageneză transpozonică. Mutație cu pierdere de structură și funcție ca urmare a întreruperii continuității unei gene aleatorii după inserția unui element transpozabil.

Mutant (lat. *mutare* a schimba). Genă, caracter, individ sau populație care au suferit o mutație.

Mutație (lat. *mutatio* schimb). Modificare a materialului genetic (ADN) al celulei, survenind spontan sau provocată de diverși agenți mutageni. Mutația poate afecta o fracțiune de genă (*m. punctuală*), una sau mai multe gene (*mutație genetică*) sau chiar un segment voluminos al unui cromozom (*mutație segmentară* sau *cromosomică*).

Mutație, frecvență. Proporția unei anumite mutante în raport cu populația parentală.

Mutație, rata. Probabilitatea apariției unei mutații. Este măsurată per celulă și per generație. La organisme haploide probabilitatea manifestării unei mutații este mai mare decât la cele diploide din cauza lipsei unei gene alele.

Mutație nonsens. Mutația care înlocuiește un codon specific unui aminoacid cu un codon nonsens și determină sinteza unui lanț polipeptidic incomplet.

Mutație polară. Mutație nonsens localizată în prima genă structurală a unui operon, care provoacă oprirea transcripției.

Mutație punctiformă. Mutația care afectează o singură bază azotată. Rămâne mută când noul codon este sinonim sau noul aminoacid nu face parte din domeniul funcțional al polipeptidului.

Mutație cu schimbare de proiect. Mutație (inserție sau deleție) care decalează cadrul de lectură a materialului genetic și schimbă semnificația secvenței dispuse distal.

Mutație cu sens greșit. Mutația care înlocuiește un codon specific unui aminoacid, cu un codon specific altui aminoacid.

Mutualism (lat. *mutuus*, reciproc). Sistem de solidaritate, de ajutor reciproc. În cadrul unei simbioze semnifică ajutor reciproc între consorți: adăpost, nutriție, protecție.

N

N-Acetil glucozamină. Carbohidrat aminat specific eubacteriilor. Legat alternativ cu un alt carbohidrat aminat, acidul N-acetil muramic, formează lanțurile de glican din structura peptidoglicanului (☞ acest termen).

NADPH oxidază. Enzimă din membrana fagosomilor; produce intermediari de oxigen reactiv când membrana fagosomului fuzionează cu lizosomii care conțin mieloperoxidază.

Nalidixic, acid. Antibiotic cap de serie în familia chinolonelor.

Necrozantă, fasciită. Infecție a fasciilor hipodermice determinată de streptococul β-hemolitic de grup A. Antrenează o necroză cu edem, ce evoluează foarte rapid către formarea de placarde vaste hemoragice și buloase, însoțite de stare de șoc. Prognosticul este sever.

Natural ucigașă (NK), celulă. Celulă care recunoaște selectiv și distruge unele celule tumorale sau infectate.

Necroză (gr. *nekrosis* mortificare). Moarte celulară patologică.

Necroză de cazeificare (gr. *nekrosis* mortificare; lat. *caseus* sau *caseum* brânză; *ficare* derivat de la *facere* a face). Necroza centrului leziunilor tuberculoase, constând în formarea unei materii gri-gălbui, compactă, granuloasă.

Neoplazie (gr. *neon* nou; *plasis* modelare). Proces de multiplicare anormală a celulelor, care duce la apariția unei tumori ce poate fi benignă sau malignă (cancer).

Neuraminidază. Enzimă care rupe resturile de acid sialic din moleculele GM₁ ale suprafețelor luminală (glicocalix eucariot, mucus); produsă de v. gripal, *Vibrio cholerae*, *Neisseria gonorrhoeae* etc.

Neutralizare (lat. *neutralis* neutru). Reacție antigen-anticorp care blochează activitatea biologică a antigenelor corespondente (toxine, veninuri, virusuri) care nu se mai pot fixa pe

receptorii celulari specifici. Reacțiile de neutralizare sunt modalități indirecte de depistare și cuantificare.

Nitrofurani. Antibiotice derivate din furani; perturbă sinteza acizilor nucleici și a proteinelor.

NK celulă  Natural ucigașă celulă

Non-self. Din engl., străin de organism.

Nosocomial (gr. *nosos* boală; *komeion* a avea grijă). Referitor la spitale.

Nosocomială, infecție (gr. *nosos* boală; *komeion* a avea grijă; lat. *infectus* de la *inficere* a strica, a otrăvi). Infecție contractată în spital, absentă în momentul internării; poate să debuteze în spital, dar și la domiciliu, după externare.

Nuclei de picătură. Rezultă prin desicarea picăturilor Flügge și persistă mult timp în atmosferă.

Nucleocapsida (lat. *nucleus*, sâmbure, nucleu; gr. *capsa*, cutie). Structură constituită din acidul nucleic viral cuprins într-un înveliș proteic, numit capsidă.

O

O, antigen (germ. *ohne*, fără; în sensul de „creștere fără vâl”, *ohne Hauch*). Antigenul somatic reprezentat de domeniul distal al moleculelor de LPS format din unități polizaharidice repetate; are specificitate de grup.

O 1. Grup antigenic al *Vibrio cholerae*, care include vibrioni holerigeni.

O 139. Antigenul tulpinilor non-O1 de *Vibrio cholerae* care au cauzat cea mai recentă epidemie de holeră.

O 157:H 7. Serotip căruia îi aparțin cele mai multe tulpini ECEH cauză de diaree sanguinolentă și sindrom hemolitic uremic.

Obligat intracelular. Microorganism care nu se poate dezvolta decât într-o celulă, fiind dependentă de metabolismul acesteia. E.g., chlamidiile, rickettsiile, coxiile, virusurile.

OmpA. Porină a membranei externe pe care o ancorează la rețeaua de peptidoglican și este receptor pentru mulți bacteriofagi și pentru pili sexuali. La *Escherichia coli* este implicată în invazia celulei gazdă prin declanșarea unei rearanjări a actinei.

Oncogen (gr. *onkos* masă, tumoră; *gennan* a produce). Care poate provoca o tumoră malignă.

Oncogeneză (gr. *onkos* masă, tumoră; *genesis* producere). Geneza cancerului. În esență, actualmente se acceptă două etape: 1) de inițiere; 2) de dezvoltare sau de promoție. Faza de inițiere este determinată fie prin încorporarea în genomul uman a unei informații genetice de „tip tumoral” (virusuri oncogene sau oncogene naturale reactivate în

organismul respectiv), fie prin interacțiunea inițiatorilor (substanțe chimice cancerigene, radiații). Modificările genetice ireversibile apărute drept urmare a acțiunii inițiatorilor constituie starea premalignă. În etapa de dezvoltare, prin intervenția promotorilor, care nu sunt carcinogeni prin ei înșiși, se vor dezvolta tumorile. Diferența majoră între inițiatori și promotori constă în faptul că primii se leagă covalent la ADN celular, unde vor produce alterări ireversibile ale genomului.

Ontogenie (gr. *ontos* ființă; *genesis* producere). Dezvoltarea individului de la concepție până la maturitate.

Opă, proteine. Proteine din membrana externă a gonococilor care mediază fagocitarea opsonin-dependentă a bacteriei de către polinuclearele neutrofile.

Operon (lat. *operari* a lucra). Totalitatea genelor structurale a căror expresie fenotipică este controlată de un operator; unitate genetică a cărei expresie fenotipică este reglată de un represor. Poate conține una sau mai multe gene structurale.

Ophtalmia neonatorum (gr. *ophtalmos*, lat. *ophtalmia* ochi, vedere; lat. *neonatorum* cu referire la nou-născut). Inflamație a conjunctivei și membranelor globului ocular prin infecție gonococică contractată la trecerea prin canalul de naștere; poate cauza orbirea.

Oportunism (fr. *opportunisme* reglarea conduitei după circumstanțele momentului). *Sensu stricto* biologic, capacitatea unor organisme de a se adapta, după împrejurări, la diferite resurse alimentare.

Oportunist. *Sensu stricto* microbiologic, organism care infectează numai gazda cu apărarea compromisă.

Opsonizanți, anticorpi. Anticorp care, prin Fc se leagă la receptori de pe membrana celulei fagocitare, iar prin Fab la antigen, facilitând astfel fagocitoza.

Opsonizare (gr. *opson*, condiment; cu sensul de a pregăti ingestia celulară). Proceș care facilitează fagocitoza prin interacțiunea receptorilor fagocitari specifici pentru Fc al unui anticorp care a reacționat cu antigenul bacterian omolog sau pentru C₃b fixat pe activatori bacterieni.

Oral, vaccin (lat. *os*, *oris* gură; *vaccinus* referitor la vacă [*vacca*, vacă], de la vaccină, variola vacilor de la care s-a obținut primul vaccin). Vaccin

administrat pe cale orală. Stimulează eficient formarea de anticorpi IgA secretori.

Otită medie (gr. *ous*, *otos* ureche; *-ită*). Inflamația urechii medii.

Oxazolidinone. Clasă de antibiotice care inhibă sinteza proteică prin legarea la subunitatea ribosomală 50 S; active contra bacteriilor gram-pozitive.

Oxidativă (respiratorie) explozie ☞ Respiratorie explozie

Oxidază, test. Test prin care depistăm o citocrom oxidază ce catalizează oxidarea prin oxigen molecular a citocromului redus. În prezența oxidazei, soluția de tetrametil-para-fenilen-diamină virează la culoarea albastră.

P

P, fimbrie. Adezina majoră a tulpinilor uropatogene de *Escherichia coli*; are ca receptor celular antigenul de grup sanguin P.

P₁, proteină. 1. Proteină dispusă sub formă de bonetă la extremitățile formelor filamentoase ale *Mycoplasma pneumoniae*; funcționează ca adezină la cili celulelor epiteliale, putând duce la distrugerea lor. **2.** Factor de patogenitate al yersiniilor, codificat plasmidic; intervine în adezivitatea la celulele eucariote.

p-Aminobenzoic acid. Denumire chimică a biotinei, principiu vitaminic din grupul B. Substrat pentru prima enzimă în lanțul sintezei acidului tetrahidrofolic, inhibat de sulfamide care acționează ca analogi structurali ai acidului p-aminobenzoic.

Pandemie (gr. *pan* tot; *demos* popor). Formă de epidemie propagată pe o zonă geografică întinsă, pe un continent sau chiar pe tot globul.

Paratop (gr. *para* lângă; *topos* loc). Regiune din molecula anticorpului care interacționează cu epitopul. Paratopul reprezintă situsul de fixare a determinantului antigenic pe imunoglobulină. Structura paratopului este complementară spațial celei a epitopului.

Parazit (lat. *parasitus*, gr. *parasitos* musafir nechemat la masă, de la gr. *para* lângă; *sitos* mâncare). Animal, plantă sau microorganism care, într-o perioadă a existenței sau pe toată durata acesteia, trăiește pe seama altei ființe căreia îi creează un prejudiciu.

Parazitism (lat. *parasitus* gr. *parasitos* musafir nechemat la masă). Condiția unui organism care trăiește pe seama altei ființe, prejudiciind-o.

Paroxism (gr. *paroxysmos* de la *para* dincolo de, în creștere; *oxynein*, a ascuți). **1.** Perioadă a unei boli în care simptomele se acutizează brusc. **2.** Gradul cel mai înalt al unei senzații sau al unui simptom.

Pasivă, imunizare (lat. *passivus* susceptibil de simțire, de la *pati* a suferi; *immunis* scutit, apărut). Injectare într-un organism de anticorpi elaborați de un alt organism în scopul de a asigura rezistența specifică la o toxină sau la un virus, față de care primul nu are imunitate.

Pasteureloză. Boală cauzată de specii ale genului *Pasteurella*.

Pasteurizare (Louis Pasteur, chimist francez, fondator al microbiologiei, 1882-1895). Procedeu de conservare temporară a anumitor alimente, prin încălzire rapidă, fără să se ajungă la fierbere, urmată de răcire bruscă. Astfel este distrusă majoritatea bacteriilor, dar nu și sporii. Chiar unele bacterii mai rezistente pot rămâne vii. În general, proteinele nu sunt denaturate.

Patogen (gr. *pathos* boală; *gennan* a produce). Care generează o boală, o îmbolnăvire.

Patogenitate (gr. *pathos* boală; *gennan* a produce). Capacitatea unui microorganism patogen de a provoca o boală.

PCR (Polymerase Chain Reaction, reacția în lanț a polimerazei). Metodă de amplificare selectivă *in vitro* a secvențelor de acizi nucleici. Procedeu este revoluționar, deoarece permite obținerea, fără clonare, a unei amplificări considerabile a unei ținte date de ADN, deci un câștig enorm în sensibilitate.

Pelioză bacilară. Leziuni de vasoneoformare hepatică și splenică determinate de infecția cu *Bartonella quintana* sau *B. henselae* la pacienți cu SIDA. Apar ca formațiuni chistice pline cu sânge cuprinse într-o matrice fibro-mixoidă, în care, prin amplificare genică (PCR), s-au evidențiat genome ale uneia din cele două bacterii.

Pelvină, boală inflamatorie. Infecția a trompelor uterine, ovarelor, ligamentelor largi și a peritoneului de înveliș.

Peniciline. Clasă de antibiotice β -lactamice care inhibă sinteza peptidoglicanului.

Pentonă. Capsomer al vârfurilor capsidelor virale icosaedrice, care este înconjurat de cinci capsomere identice.

Peplomere. Glicoproteine codificate de virus care proemină ca spiculi pe suprafața anvelopei virale.

Peplos ☞ Anvelopă

Peptidoglican (gr. *peptos* digerat, copt; *glykys* dulce). Polimer polizaharid-peptid constituent al peretelui bacterian, format din lanțuri de glican (☞ acest termen) solidarizate prin subunități și punți peptidice într-o structură reticulată rezistentă.

Perforină (lat. *perforare* a străpunge, a găuri). Proteine formatoare de pori stocate în veziculele de secreție ale limfocitelor T citotoxice și eliberate după contactul acestora cu celulele țintă. Eliberate prin exocitoză locală, perforinele produc, prin polimerizarea în celulele țintă, canale cu diametru de circa 10 nm, ceea ce conduce la liza celulară.

Perhidrol. Peroxid de hidrogen în soluție 33%, întrebuințată în industrie și ca reactiv în laborator.

Pericardită (gr. *peri* în jurul; *kardia* inimă; -ită). Inflamația pericardului.

Peristaltism (gr. *peristaltikos* care are proprietatea de a se contracta, de la *peristellein* a comprima). Termen folosit pentru a denumi rezultatul activității contractile a fibrelor musculare din peretele tubului digestiv sau ureterelor, prin care se asigură propulsia conținutului acestuia. Peristaltismul constă în contracții inelare, sub forma unor unde succesive din partea superioară spre cea inferioară a organului tubular.

Peritonită (lat. medicală *peritoneum* din gr. *peritonaion* care se întinde în jurul). Inflamație a peritoneului.

Permează (lat. *permeare* a pătrunde prin; -ază sufix pentru denumirea enzimelor). Proteină membranară cu rol în transportul activ.

Permisivitate celulară. Capacitatea unei celule de a exprima integral mesajul genetic al unui virus, cu replicarea și producerea de virioni progeni infectanți.

Peroxid de hidrogen (lat. *per* peste). Oxid de hidrogen care conține mai mult oxigen decât apa ($H_2O \rightarrow H_2O_2$). Este folosit ca reactiv chimic. Natural apare în fagolisozomi prin acțiunea superoxid dismutazei asupra superoxidului produs prin explozia respiratorie ($2O_2^- + 2H_2O \rightarrow H_2O_2 + O_2$).

Peroxidază (lat. *per* prefix intensiv, care desemnează combinația în care un element are cea mai mare valoare a valenței sale; gr. *oxys* acru, oxigen). Enzimă care convertește peroxidul de hidrogen și NADH în apă și NAD.

Pertussis, toxină. Toxină A-B produsă de *Bordetella pertussis*. Polipeptidul B este ligand la receptori membranari specifici și mitogen

nespecific al limfocitelor T (citotoxice și supresoare). Polipeptidul A are triplu efect: de activator al adenilat-ciclazei membranare, de sensibilizare la histamină și hipersecreție de insulină.

Pestă (lat. sec. XV *pestis* molimă, ciumă). Boală cauzată de *Yersinia pestis*. În funcție de poarta de intrare evoluează ca: (i) *Pestă bubonică* dacă bacteria este inoculată prin înțepătura puricilor infectați (după prânzul sanguin pe rozătoarele gazde naturale ale bacteriei sau alți bolnavi); caracterizată prin formarea bubonului pestos (adenită cu periadenită regională). (ii) *Pestă pneumonică* după inhalarea de aerosoli care vehiculează *Y. pestis*; evoluează mai rapid mortal decât pesta bubonică. Ambele forme se generalizează pe cale sanguină.

Peteșie (it. *petecchia* peteșie, din lat. sec. XV: *pestichiae* de la *pestis* molimă, ciumă, fiindcă aceasta se însoțea frecvent de peteșii – Littre). Leziune elementară cutanată, plană, caracterizată printr-o pată roșie-violacee, care nu dispare la presiune și se datorează extravazării hematiilor din capilarele dermice lezate.

Peyer, plăcile lui. Aglomerări limfoide necapsulate situate în corionul mucoasei intestinului subțire, în special la nivelul ileonului și cu rol de organe limfoide secundare.

Picături Flüge Picături mici de secreții din căile respiratorii eliminate prin tuse, strănut.

Pielonefrită (gr. *pyelos* bazin; *nephros* rinichi; -ită). Nefropatie interstițială supurată, de etiologie bacteriană, uni- sau bilaterală, interesând bazinetul și parenchimul renal, mai frecventă la femei, copii și bătrâni și asociată de obicei cu leziuni bazinetale. Clinic: tablou polimorf, alcătuit din asocierea unui sindrom urinar, hipertensiv, de insuficiență renală, mai rar edeme și tulburări generale variate. Poate evolua acut cu febră și uneori bacteriemic sau cronic.

Pili (lat. *pilus*, păr). Filamente rigide, prezente la unele bacterii gram-negative. Pot fi pili comuni (fimbrii), cu funcție de ligand, și pili sexuali (prezenți numai la bacteriile gram-negative care găzduiesc plasmide conjugative), cu rol în conjugarea bacteriană.

Pilină. Proteina pililor comuni.

Piocianină (gr. *pyon* puroi; *kyanos* albastru). Pigment albastru produs de baciliul piocianic (*Pseudomonas aeruginosa*), care determină culoarea albăstruie a puroiului de la nivelul plăgilor infectate cu această bacterie.

Piocină. Bacteriocină produsă de *Pseudomonas aeruginosa*.

Piogen (gr. *pyon* puroi; *gennan* a produce). Care produce puroi.

Pionier, specie. Specie care contaminează și începe colonizarea unei suprafețe/cavități a organismului.

Pirazinamidă. Promedicament antituberculos „din

prima linie”; convertit intracelular în acid pirazinoic inhibă sinteza acizilor micolici, cu efect bactericid.

Pirogen (gr. *pyr*, *pyros* foc; *gennan* a produce). Care provoacă febră.

Placa dentară (fr. *plaque* din olandeză *plaken* a cârpi, a petici; lat. *dens*, *dentis* dinte). Depozit aderent la suprafața smalțului dentar care stagnează în zonele de retenție și este compus din anumiți constituenți ai salivei, elemente microbiene ale florei saprofite și resturi alimentare, în special hidrocarbonate. Eliminarea sa prin periaj contribuie la evitarea cariilor dentare și parodontitei.

Plachetar, factor de activare. Citokină produsă de macrofage; contribuie la dilatarea micilor vase sanguine.

Plajă (it. *piaggia* discontinuitate). *Sensu stricto* biologic: **1.** Discontinuitate a unei culturi bacteriene confluențe cauzată de bacterioliză printr-o suspensie bacteriofag (atât de diluată încât un virion sau mică grupare de virioni determină liză localizată – unitate formatoare de plajă, modalitate de cantificare a fagilor dintr-o suspensie). **2.** Discontinuitate în filmul unei culturi celulare cauzată de efectul citopatic indus de un virion sau mică grupare de virioni (modalitate de cantificare a virusurilor dintr-o suspensie).

Plasmă sanguină (gr. *plasma* obiect care este modelat). Partea fluidă a sângelui care este lipsită de elementele figurate, dar conține integral factorii coagulării.

Plasmid (gr. *plasma* obiect modelat). Fragment de ADN extracromosomal, circular, prezent în bacterii și capabil de replicare autonomă.

Plasmină (gr. *plasma* obiect modelat). Enzimă proteolitică din grupul serin-proteazelor, care poate degrada fibrina, fibrinogenul, accelerând astfel liza cheagurilor sanguine. Rezultă prin activarea plasminogenului.

Pleomorf (gr. *pleion* mai numeros; *morphe* formă) ☞ Polimorf

PLP ☞ Proteine de legare a penicilinei

PMN. Granulocit neutrofil cu viață scurtă, care funcționează ca fagocit „profesionist” circulant în sânge și ajunge prin diapedeză în focarele inflamatorii acute.

Pneumolizină O. Hemolizină oxigen-labilă produsă de *Streptococcus pneumoniae*.

Pneumonie atipică ☞ Pneumonie interstițială

Pneumonie interstițială (gr. *pneumonia* de la *pneumon* plămân; lat. *interstitium* interval, de la *interstare* a sta la mijloc). Pneumonie care evoluează cu leziuni inflamatorii în interstițiul pulmonar. Este cauzată de virusuri cu tropism respirator și unele bacterii (e.g., *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, chlamidii). Sin.: **pneumonie atipică primară**; atipică pentru că nu induce semnele stetacustice și radiologice ale clasicei pneumonii lobare; primară pentru că este

determinată de microorganisme primar patogene.

Pneumonie lobară acută. Pneumonie care evoluează cu leziuni de alveolită la nivelul unui lob pulmonar (mai rar cuprinde doi lobi sau un pulmon în întregime). Evoluează cu semne care traduc cuprinderea pleurei în focarul inflamator (junghiul toracic), inflamația bronho-alveolară (raluri caracteristic crepitante, tuse cu expectorație). Cel mai frecvent este determinată de *Streptococcus pneumoniae* prin suprainfecția bacteriană a pulmonului.

Polimixine. Clasă de antibiotice polipeptidice. Alterează permeabilitatea membranei citoplasmice.

Polimorf (gr. *polys* mulți; *morphe* formă). Care se prezintă sub mai multe forme. Sin. pleomorf.

Polimorfonuclear, leucocit (gr. *polys* mulți; *morphe* formă; lat. *nucleus* sâmbure, nucleu) ☞ Granulocit.

Populație. Mulțime de indivizi ai unei specii care habitează același biotop.

Porină (lat. *porus*, gr. *poros* mic orificiu). **1.** Proteină care constituie prin oligomerizare în membrana externă a bacteriilor gram-negative pori, prin care au acces mici molecule de alimente sau antibiotice hidrofiele în spațiul periplasmic, unde urmează a fi digerate. **2.** Citotoxină care se inseră în membrana citoplasmică în care, prin oligomerizare, formează pori. Efectul este citolitic (e.g., streptolizinele).

Portaj de agent infecțios. Găzduire și eliminare a unui microorganism patogen de pe învelișurile sau din cavitățile unei persoane aparent sănătoase. Putătorii pot fi: **1. contacți** (persoane care au venit în contact cu un bolnav cu boală infecțioasă/contagioasă sau se află în una din trei ipostaze: perioada de incubație a bolii, infecție inaparentă sau simplă colonizare); **2. convalescenți** (pe durată limitată sau cronic); **3. non contacți** (în urma contaminării cu agentul infecțios prin elemente ale mediului ambiant).

pOX₁. Plasmid putător al genelor care codifică toxinele *Bacillus anthracis* și proteinele reglatoare.

pOX₂. Plasmid purtător al genelor care codifică capsula *B. anthracis* și proteinele reglatoare.

Poxvirus (engl. veche *pock*, pl. *pocks* pustulă-ulcerație; virus care determină pustule). Cele mai mari și mai complexe structurate virusuri ADN.

PPD (engl. *Purified Protein Derivative*). Tuberculoproteina purificată. Se conservă mai bine și poate fi mai precis dozată decât tuberculina brută.

Prezervare (lat. *praeservare* de la *prae* înainte, *servare* a păstra, a menține). Omorârea sau inhibarea dezvoltării unor microorganisme în medicamente sau alimente, evitându-se astfel degradarea acestora.

Prion (engl. *proteinaceous infectious particle*, particulă infecțioasă de natură proteică). Mutantă a unei proteine normale din membrana celulară a organismului eucariot (mai cunoscută la vertebrate),

la om codificată de o genă de pe brațul scurt al cromosomului 20. Determină diferite encefalopatii spongiforme. Uneori proteina prionică poate deveni independentă și se transmite „pe orizontală” de la un organism la altul ca agent infecțios.

Procalcitonină. Marcher seric al unei infecții bacteriene sistemice, al cărui nivel crește proporțional cu severitatea sepsisului; demonstrează o sensibilitate și specificitate mai mari decât alți reactanți de fază acută, cum este proteina C reactivă.

Procariot (lat., gr. *pro* înaintea; gr. *karyon* sâmbure, nucleu). Organism unicelular lipsit de orice sistem intern de membrane, care are un echivalent nuclear format dintr-un singur cromosom. Procariotele se multiplică prin diviziune celulară directă, de obicei prin fisiune binară. Constituie un regn, *Procariotae*, care reunește arheobacteriile și eubacteriile.

Prodromală, perioadă (lat., gr. *pro* înainte; gr. *dromos* drum). Perioada de după incubarea bolii, când apar primele manifestări ale acesteia.

Profag. Genomul unui fag temperat integrat în genomul celulei gazdă.

Profilaxie (gr. *prophylassein* care păzește, de la *pro* înainte, *phylaxis* protecție). Ansamblul metodelor destinate prevenirii apariției, propagării sau evoluției unei boli.

Promotor (lat. *promotus* de la *promovere* a mișca înainte). Denumire generică pentru un factor care declanșează un proces. *Strictu sensu* genetic: secvențe nucleotidice ale unui operon (☞ acest termen) peste care trebuie să treacă ARN polimeraza pentru transcrierea genelor structurale. Interacțiunea dintre operator și represor condiționează depășirea promotorului. Într-un *sistem inductibil* represorul reacționează direct cu promotorul și nu permite transcrierea genelor structurale. Într-un *sistem represibil* gene reglatoare codifică doar un *aporesor* care poate reacționa cu promotorul numai după ce s-a cuplat cu un *coresor*.

Prostaglandine (engl. *prostate gland*, deoarece au fost descoperite prima dată la nivelul prostatei). Substanțe derivate dintr-un acid gras, care stimulează contracția mușchiului neted; sunt produse de majoritatea tipurilor de celule.

Proteina A. Proteină superficială din peretele *Staphylococcus aureus*, care fixează nespecific anticorpii prin porțiunea lor Fc.

Proteina M. Proteină superficială a *Streptococcus pyogenes* și a altor streptococi piogeni; dispusă ca fibrile asociate cu acidul lipoteichoic; antigen cu

specificitate de tip, funcționează ca ligand la epiteliul faringian și are rol antifagocitar.

Proteina R. Proteină din structura peretelui streptococilor.

Proteina T. Proteină din structura peretelui streptococilor, bun marker epidemiologic.

Proteina de legare a fibronectinei ☞ Fibronectină, proteină de legare la

Proteine de legare a penicilinei. Abreviat, PLP, proteine localizate pe fața externă a membranei citoplasmice a bacteriilor. Sunt enzime implicate în sinteza și remanierea peptidoglicanului.

Proteine de fază acută. Grup de proteine plasmatic care nu sunt anticorpi, dar a căror concentrație crește considerabil în cursul reacției inflamatorii acute. Ele sunt reprezentate de: proteina C reactivă, proteina ce leagă manoză, α_1 -antitripsina, α_2 -macroglobulina, fibrinogenul, ceruloplasmina și factori C9 și B ai complementului.

Protoplast (gr. *protos* primul, inițial, anterior, simplu; *plastis*, *plastos* modelare, plasticitate).

1. Corpul bacterian nud, lipsit de perete, citoplasma delimitată de membrana citoplasmică. 2. Bacterie care, sub acțiunea unui agent muralitic, ajunge total lipsită de perete. Supraviețuiește numai în mediu osmotic protector, în care ia formă sferică, indiferent de forma inițială a bacteriei normale, cea conferită de perete. La dispariția agentului muralitic, deși are informația genetică și enzimele pentru sinteza peretelui, nu revine la forma inițială (☞ și Sferoplast).

Prototrofă (gr. *protos* primul; *trophe* hrană, nutriție). Bacterie capabilă să-și sintetizeze toți metaboliții esențiali pentru creștere.

Protozoar (gr. *protos* primul; *zoon* animal). Microorganisme unicelulare mai mari și mai evoluate decât bacteriile. Unele sunt patogene.

Pseudomembrană ☞ Falsă membrană

Psihrofile (gr. *psychros* frig; *philos* prieten). Bacterii pentru care temperatura optimă de creștere este între 5-15°C.

Psihrotrofe (gr. *psychros* frig; *trophe* nutriție). Bacterii pentru care temperatura optimă de creștere este între 25-30°C.

Puroi (lat. *pus*, *puris* puroi). Fluid rezultat al inflamației, compus din plasmă exsudată, leucocite, în majoritate alterate și microbul infectant.

Purtător sănătos ☞ Portaj de agent infecțios

Purulent (lat. *purulentus*, de la *pus*, *puris* puroi). Care conține puroi.

Q

Quinupristină. Antibiotic din clasa streptograminelor.

R

R, antigen ☞ Lipopolizaharid

R, formă de cultură ☞ S→R variație

RAA ☞ Reumatism articular acut

Răspuns de fază acută ☞ Proteine de fază acută

Reactivi de fază acută ☞ Proteine de fază acută

Recombinare genetică (lat. *re* iarăși; *combinare* a unii două lucruri). Proces prin care o bacterie devine parțial diploidă după un transfer genetic revine la forma normală haploidă. Recombinarea este: (i) generalizată, când se produce prin rupere și reunire cu substituția unei alele controlată de endonucleazele de restricție; (ii) „nelegitimă” sau transpoziție (☞ acest termen).

Repellent. Substanță, în general nocivă, care, după ce este receptată în mediu de către bacteriile mobile, demetilează proteine membranare specifice, ceea ce determină rotația asincronă orară a flagelilor cu îndepărtarea bacteriei de zona nefavorabilă.

Repicare. Procedeu prin care o bacterie este obținută în cultură pură.

Replicon (lat. *replicare* a îndoi înapoi). Cel mai scurt fragment de ADN capabil de replicare ca unitate autonomă într-o celulă. Circularizat, este întotdeauna atașat la un situs membranar de replicare unde sunt concentrate enzimele care controlează sinteza ADN. Replicarea se face după modelul inelului rotativ, imaginat de către Jacob și Brenner, conform căruia ADN-polimeraza transcrie în sens antiorar secvențele nucleotidice ale catenelor parentale.

Represie (lat. medievală *repressio* de la *reprimere* a împinge înapoi). Inhibiția, blocarea unei gene, devenită incapabilă să își exercite acțiunea (☞ și Operon, Promotor).

Represor (lat. *repressor* represor de la *reprimere* a împinge înapoi). Proteină reglatoare care se fixează pe secvențele reglatoare ale ADN (sau ARN) și care blochează astfel transcripția sau, respectiv, traducerea. Blocarea transcripției se produce prin împiedicarea accesului la situsul de fixare a ARN-polimerazei (☞ Promotor).

Respiratorie explozie. Producerea într-un fagocit de intermediari ai oxigenului reactiv.

Respirație aerobă. Respirația celulară în care acceptorul final de electroni este O₂.

Respirație anaerobă. Respirația celulară în care acceptorul final de electroni este o substanță anorganică alta decât oxigenul (e.g., nitrat, sulfat).

Reticulat, corp. Forma replicativă a chlamidiilor, care se divide într-o vacuolă citoplasmică din celula infectată.

Reticuloendotelial, sistem. Sistem fagocitar format din macrofage, microglia sistemului nervos central, celulele litorale ale capilarelor sinusoide din ficat, splină, măduva osoasă hematogenă (☞ și Sistem fagocitic mononuclear).

Retrovirus (lat. *retro* înapoi, în sens contrar; *virus* venin, otravă). Virusuri ARN al căror genom monocatenar, linear are asociată o reverstranscriptază, enzimă care transcrie mesajul genetic din secvențele ARN ale virusului infecțios în secvențe ADN ale provirusului care se integrează în genomul celulei gazdă.

Restricție, enzime de. Endonucleaze care recunosc ADN străin (inclusiv propriul ADN mutant înainte de metilarea sa specifică) și îl degradează prin clivarea unor secvențe palindromice specifice de 6-8 pb.

Reumatică febră ☞ Reumatism articular acut

Reumatism articular acut. Boală inflamatorie a țesutului conjunctiv ce apare la circa trei săptămâni după o infecție faringiană cu *Streptococcus pyogenes*. Leziunile, abacteriene, se localizează cu predilecție la nivelul inimii (pancardită reumatică) și al articulațiilor și se produc prin mecanisme de hipersensibilitate. Clinic, apar artrite acute multiple, migratorii, însoțite de semne generale variabile. Artritele se vindecă fără sechele, dar leziunile cardiace formează cicatrice care duc la valvulopatii.

Rifabutin. Antibiotic din familia rifamicinei. Sin.: ansamicină.

Rifampicină. Antibiotic din familia rifampicinei.

Rifampin. Denumire comercială americană a rifampicinei.

S

S, formă de cultură ➤ S→R variație

S, strat. Înveliș distal peretelui bacterian întâlnit la arheobacterii și la unele eubacterii care trăiesc în condiții extreme (de temperatură, pH, potențial redox) ori în nișe metabolic restrictive (e.g., restricție de fier). Are structură proteică sau glicoproteică paracristalină formată din multimeri pătrați, hexagonali ori cu dispoziție oblică.

S→R, variație. Serie de mutații genetice prin care o bacterie pierde capacitatea de sinteză a segmentelor distale de lipopolizaharid (LPS). Acestea determină pierderea în grade variate a încărcăturii electronegative și hidrofiliei suprafeței bacteriene. Ca atare, bacteriile care sintetizează integral LPS formează suspensii stabile și colonii rotunde, umede, lucioase (forma de cultură S – de la engl. *smooth* neted) și sunt virulente; cele care sintetizează doar segmentul proximal al LPS sunt autoaglutinabile, formează colonii cu margini neregulate, cu suprafața uscată, rugoasă (forma de cultură R – de la engl. *rough* rugos) și sunt mai puțin sau deloc virulente.

Salpingită (gr., lat. *salpinx* trompetă; -ită). Inflamația trompei uterine (Fallopio).

SAMR (*S. aureus* metilicilino-rezistent) ➤ Metilicilino-rezistenți stafilococi.

Sanitizare. Procedu prin care contaminarea de pe suprafețe inerte este redusă până la un nivel de nepericulozitate.

Scarlatină (lat. medievală *scarlatum* roșu aprins, din persană *saquirat* stofă de culoare roșie). Boală febrilă cauzată de tulpini eritrotogene de *Streptococcus pyogenes*, caracterizată prin angină, urmată de exantem eritematos care cuprinde tot corpul (cu excepția palmelor și plantelor), fața (facies vultuos cu paloare circumorală), limbă roșie sau zmeurie. După o săptămână erupția dispare și se exfoliază tegumentul palmar și plantar.

Scuamoase, celule (lat. *squamosus* acoperit de solzi, de la *squama* solz). Celulele superficiale exfoliative ale epiteliilor stratificate scuamoase.

Sechelă (lat. *sequela* consecință). Tulburare organică în urma vindecării unei boli, a unui traumatism.

Secretor IgA. Anticorp IgA dimerizat prin intermediul unei proteine (piesa secretorie) care leagă între ele Fc la nivelul domeniilor C_H 3 și protejează Ig de enzimele lizosomale în cursul translocării celulare spre suprafața luminală a epiteliilor secretorii. IgA dimere legate prin piesa secretorie de resturile de cistină ale mucusului constituie bariera imună a epiteliilor secretorii.

Secvență de inserție. Element transpozabil cu dimensiuni de 0,8-1,4 Kb flancat de 20-40 pb palindromice (inversate), care sunt ținte pentru transpozaze (➤ acest termen) și poartă gene de

codificare a propriilor transpozaze. Se inseră aleatoriu într-o genă și determină astfel mutații cu pierdere de structură/funcție. Secvențele de inserție pot flanca unii transpozoni ca repere pentru transpozaze.

Self. În engl., propriu. Referitor la antigene proprii organismului.

Semn clinic (lat. *signum* semn). Tulburare cauzată de o boală, așa cum este constatată de medic la examenul obiectiv.

Sensibilizare (lat. *sensibilis* care se poate percepe cu toate simțurile). Răspuns exagerat al organismului la o substanță străină (antigen). După efectorii imunitari implicați, sensibilizările recunosc patru mecanisme: *Tipul I sau anafilactic* prin reacția antigenului cu anticorpii IgE fixați pe suprafața mastocitelor; *Tipul II sau citolitic-citotoxic* prin anticorpi IgG sau IgM care reacționează în prezența complementului sau a celulelor ucigăse cu antigene exprimate pe membrana celulară sau când limfocitele T citotoxice reacționează cu asemenea antigene; *Tipul III* prin complexe imune circulante (reacții tip boala serului) sau tisulare (reacții Arthus); *Tipul IV sau întârziat* în care sunt implicate limfocite T specifice sensibilizate și microorganisme facultativ sau unele microorganisme obligat intracelulare. Sin.: hipersensibilitate. Pleonasm: hipersensibilizare.

Sensu lato (lat.). În sens larg, general.

Sensu stricto (lat.). În sens restrâns, ținut.

Sepsis (gr. *sepsis* putrefacție). 1. Condiția care decurge din prezența în sânge a microorganismelor sau produse ale lor. 2. Primul stadiu al șocului septic care este demonstrat prin izolarea agentului infecțios.

Septic (lat. *septicus*, gr. *septikos*, care face să putrezească). Contaminat cu microbi patogeni (suprafețe, substanțe) sau infectat (plăgi).

Septicemie (lat. *septicus*, gr. *septikos* care face să putrezească; *haima* sânge). Infecție sistemică în care microorganismele se multiplică în sânge sau sunt descărcate continuu dintr-un focar de infecție (septic) împreună cu produsele lor și substanțe rezultate din lezarea tisulară.

Ser sanguin. Partea fluidă a sângelui lipsită de elementele figurate și factorii coagulării.

Seroconversie. Inducție a anticorpilor specifici, surprinsă de laborator prin reacții antigen-anticorp corespunzătoare, în cursul unei infecții.

Serogrup. Unitate taxonomică infraspecifică definită prin antigene cu specificitate de grup.

Serologic, diagnostic. Metodă indirectă de diagnostic al unei boli infecțioase prin titrarea anticorpilor. Anticorpii depistați au semnificație clinică dacă: (i) este demonstrată seroconversia (➤ acest termen) ori (ii) dinamica semnificativă pe seruri perechi recoltate cât mai aproape de

debutul bolii și după 10-21 zile; (iii) anticorpii aparțin clasei IgM; (iv) dacă titrul anticorpilor depășește o anumă valoare semnificativă.

Serotip ☞ Serovar

Serotipie. Determinarea serotipului unui microorganism.

Serovar. Clasificare a tulpinilor bacteriene bazată pe antigene de suprafață (e.g., antigene H, K ale enterobacteriaceelor, proteina M a streptococilor piogeni). Sin. serotip.

Sexuată, înmulțire. Modalitate de înmulțire care presupune formarea unui zigot, celulă diploidă, prin fuziunea a doi gameți haploizi, unul masculin și celălalt feminin.

Sferoplast (lat. *sphaera*, gr. *sphaira* sferă; gr. *plastis*, *plastos* modelare, plasticitate). Bacterie, care în urma acțiunii unui agent muralitic, rămâne numai cu resturi de perete celular. Supraviețuiește numai în mediu osmotic protector, în care ia formă sferică, indiferent de forma bacteriei normale. După dispariția agentului muralitic revine la forma inițială cu perete integral.

Shiga, toxină. Toxină A-B- produsă de *Shigella*; inhibă sinteza proteică în celulele gazdei; poate fi responsabilă de sindrom hemolitic uremic, similar celui produs de toxina tulpinilor ECEH.

Shiga-like, toxină. Toxina produsă de tulpinile unor specii de enterobacteriacee; are acțiune similară cu cea a toxinei Shiga.

Sialidază ☞ Neuraminidază

Siderofori (gr. *sideros* fier; *phoros* care duce, care poartă). Molecule chelatoare de fier; pot fi ale organismului gazdă (e.g., lactoferina, transferina) sau produse de bacterii ca factori de virulență prin care evită efectul bacteriostatic al chelatorilor de fier ai gazdei (e.g., enterochelina, aerobactina).

Sifilis primar. Stadiul inițial al infecției sifilitice care evoluează la o gazdă fără imunitate anti-sifilitică. Leziunile, șancrul tare și adenita satelită, sunt localizate, abundă în treponeme (șancrul ca leziune deschisă este foarte contagios) și se vindecă spontan, fără cicatrice.

Sifilis secundar. Al doilea stadiu evolutiv al infecției sifilitice, care evoluează la o gazdă care nu a dezvoltat încă imunitate celulară anti-sifilitică. Se manifestă cu leziuni generalizate pe tegumente, mucoase și în toate organele. Leziunile abundă în treponeme (cele de la nivelul mucoaselor sunt foarte contagioase), evoluează în valuri succesive și se vindecă spontan fără cicatrice.

Sifilis terțiar. Al treilea stadiu al infecției sifilitice. Evoluează la o gazdă cu imunitate celulară anti-sifilitică relativă. Leziunile sunt localizate, distructive și sărace în treponeme. Leziunile cutanate și osoase evoluează ca gome, cele viscerale ca scleroze care duc la insuficiențe funcționale.

Sifilis congenital. Infecție sifilitică transmisă în

utero sau contractată în canalul de naștere.

Sifilis latent. Formă a infecției sifilitice care apare după stadiul secundar al bolii la gazda cu o bună reactivitate imună celulară (cca 25% din infectați). Evoluează fără leziuni.

Simbioză (gr. *syn* împreună; *bios* viață). Asociere de viețuitoare din specii diferite care își duc viața în comun.

Simetrie cubică ☞ Simetrie icosaedrică

Simetrie helicală. Model arhitectonic al unor virusuri ARN în care subunitățile proteice ale capsidei îmbracă molecula de acid nucleic într-o teacă helicală.

Simetrie icosaedrică. Model arhitectonic al virusurilor la care subunitățile proteice se asociază în capsomere care formează o capsidă cu forma unui icosaedru, corp geometric cu 20 de fețe în formă de triunghi echilateral, 30 muchii, 12 vârfuri și 5 axe de simetrie.

Simptom clinic (gr. *symptoma* ceea ce survine împreună). Tulburare cauzată de o boală, așa cum este resimțită și declarată de pacient; deci simptomele sunt acuze subiective.

Sindrom (gr. *syndrome* drum împreună, de la *syn* împreună și *dromos* drum). Ansamblu de simptome și semne care pot constitui o entitate clinică, dar nu și etiologică.

Sindromul ansei oarbe. Apare mai ales în cazul unui intestin scurt postoperator. Colonizarea bacteriană excesivă a intestinului subțire determină degradarea sărurilor biliare urmată de malabsorbția lipidelor; aceasta împreună cu malabsorbția vitaminei B₁₂ sunt responsabile de steatoree și anemie.

Sindrom Guillain-Barré (*Georges Charles Guillain*, neurolog francez, profesor la Paris, 1876-1967; *Jean Alexandre Barré*, neurolog francez, Strasbourg, 1880-1967). Sindrom particularizat prin leziuni inflamatorii și demielinizări în sistemul nervos. Este o complicație rară a unor viroze acute în special rujeolă, rubeolă, varicelă, parotidită epidemică. În 1976 a fost semnalat și după vaccinarea antigripală cu virusul gripal porcine (de cinci ori mai frecvent la vaccinați decât la nevaccinați).

Sindrom hemolitic uremic Sindrom caracterizat prin insuficiență renală prin necroză corticală, anemie hemolitică microangiopatică, trombocitopenie severă și purpură. Sin. sindrom Gasser.

Sindromul pielii opărite. Este determinat de toxina exfoliativă a *Staphylococcus aureus* la gazde cu apărarea imună deficitară și evoluează sub două forme: (i) *Boala lui Ritter* când focarul de infecție toxigenă este localizat, dar leziunea epidermică generalizată (clivarea epidermei la presiune ușoară asupra pielii, apariția de bule cu lichid aseptice, care se rup în lambouri epidermice); (ii) *Impetigo bulos al nou-născuților* la care apar bule epidermice

generalizate care conțin tulpina infectantă de *S. aureus*.

Sindromul lui Reiter (*Hans Conrad Julius Reiter*, medic igienist german, profesor la Rostock, 1881-1969). Afecțiune cronică și recidivantă determinată de *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter* sau *Chlamydia*, în cadrul căreia se asociază un sindrom dizenteric (în formele epidemice), uretrită acută fugace postdiareică, conjunctivită bilaterală, poliartrită ce poate ajunge până la spondilartrită anchilozantă și leziuni cutaneomucoase, veziculobuloase în formele acute, keratodermice sau psoriaziforme cu tendință pustuloasă în formele cronice. Se observă la pacienții cu HLA B27. Este considerată ca fiind o formă de artrită reactivă.

Sindromul lui Reye (*Ralph Douglas Kenneth Reye*, patolog australian, sec XX). Encefalopatie acută cu degenerescență grasă a ficatului și mortalitate până la 40%. Afectează copiii între 2 și 16 ani supuși tratamentului cu derivați ai acidului salicilic în cursul varicelei sau gripei (mai ales cu virus B). Biochimic constă în hipoglicemie și hipoglicorahie, creșterea transaminazelor serice, hiperamoniemie, acidoză metabolică, cetonurie, în relație cu anomalii ale metabolismului lipidic.

Sindromul șocului toxic stafilococic. Boală cauzată de colonizarea vaginului sau infecția unor plăgi cu tulpini de *S. aureus* care produc TSST-1 (toxina 1 a sindromului șocului toxic); simptomele includ febră, erupție scarlatiniformă cu exfolierea tegumentului palmelor și plantelor, insuficiență funcțională a organelor vitale, șoc. Abrevierea curentă TSS provine de la denumirea engleză a bolii *Toxic shock syndrome*.

Sistemic. Care afectează întregul organism, nu numai un țesut sau un organ specific.

Sistemul fagocitic-mononuclear. Denumire propusă recent pentru un grup de celule cuprinzând macrofagele și precursorii acestora, adică monocitele și celulele precursorale din măduva osoasă. Termenul a fost propus pentru înlocuirea celui de sistem reticuloendotelial, care nu trebuie să includă monocitele.

Sistemul reticuloendotelial ☞ Reticuloendotelial sistem

SLO ☞ Streptolizină O

SLS ☞ Streptolizină S

Specie (lat. *species* aspect, aparență). Unitatea taxonomică de bază a lumii vii. La organismele eucariote este comunitatea reproductivă formată din populații care habitează un anumit areal și ai căror indivizi se încrucișează liber cu orice individ de sex opus, dând descendenți fertili. În regnul *Procariorotae*, în care înmulțirea este exclusiv vegetativă, specia poate fi definită doar ca grupare de tulpini cu mai multe caractere comune prin care diferă de alte grupări de tulpini.

Specie pionier ☞ Pionier, specie

Spirili (lat. *spirillum* încolăcire, din gr. *speira* spirală). Eubacterii cu perete rigid. Au forma unui bastonaș cu curburi helicoide.

Spirochete (gr. *speira* spirală; *khaite* fir de păr). Eubacterii cu perete flexibil. Au forma unor filamente spiralate, mobile. Lungimea de undă, adâncimea și regularitatea spirelor sunt funcție de gen.

Spor bacterian ☞ Endospor

Sporadică, infecție ☞ Infecție sporadică

Spută (lat. *sputume* spută). Exsudatul traheo-bronho-(alveolar) mobilizat și expectorat prin tuse.

Stafilococice, enterotoxine. Superantigene produse de *Staphylococcus aureus*, cu acțiune entero- și neurotoxică.

Stafilokinază. Exotoxină produsă de *Staphylococcus aureus* care activează plasminogenul, determinând liza cheagurilor de fibrină.

-static. Sufix cu semnificația „care oprește”, „care stă”.

Sterilizare (lat. *sterilis* sterp, neproductiv). Procedee fizice sau agenți chimici care distrug sau îndepărtează toate microorganismele, inclusiv sporii bacterieni.

Streptococică, gangrenă ☞ Fasciită necrozantă

Streptogramine. Grup de antibiotice care legate de ribosomi inhibă sinteza proteică, împiedicând translocarea aminoacizilor pentru alungirea lanțului polipeptidic.

Streptokinază. Exotoxină produsă de streptococii piogeni care activează plasminogenul.

Streptolizină O. Hemolizină oxigen-labilă și antigenică, produsă de *Streptococcus pyogenes* și alți streptococi piogeni.

Streptolizină S. Hemolizină oxigen-stabilă și neantigenică, produsă de *Streptococcus pyogenes* și alți streptococi piogeni. Este responsabilă de caracterul β-hemolitic al acestor streptococi cultivați în aerobioză.

Sulfactam. Inhibitor de β-lactamază.

Sulfonamide. Familie de antibiotice care inhibă sinteza acidului tetrahidrofolic, fiind analogi structurali ai acidului p-amino-benzoic. Sin.: sulfamide.

Superantigene. Toxine bacteriene proteice care stimulează nespecific populațiile de celule T să producă citokine.

Superoxid, radical. Formă reactivă a oxigenului produsă în cursul fagocitozei; toxică pentru bacterii.

Superoxid dismutază. Enzimă care în fagolizosom transformă radicalii superoxid în peroxid de hidrogen.

Surfactant (fr. *sur* peste, deasupra; lat. *facies* față). Complex format din proteine și fosfolipide care câptușește fața interioară a alveolelor pulmonare. Reduce tensiunea superficială a fluidelor pulmonare prevenind colapsul alveolar.

Suspensie (lat. *suspensio* ridicare). Sistem format din particule solide foarte fine dispersate într-un

fluid.

Ș

Șancru (fr. *chancre* șancru, din lat. *cancer* rac). Ulcerație a mucoaselor sau a pielii apărută la locul de pătrundere în organism a unui agent infecțios, mai ales cu transmitere sexuală: *șancru tare*, leziunea inițială a sifilisului primar; *șancru moale*, boală veneriană cauzată de *Haemophilus ducreyi*.

Șoc (fr. *choc* ciocnire între două corpuri). În sens patologic, stare acută, gravă, datorată insuficienței circulatorii prin vasodilatația arteriolelor, mai ales în circulația mezenterică.

Șoc anafilactic. Formă a sensibilizării de tip I. Survine după al doilea contact cu un antigen injectat care reacționează cu anticorpi IgE omologi fixați pe mastocite și le provoacă degranularea cu eliberarea mediatorilor chimici ai anafilaxiei

(histamină, prostaglandine, leucotriene, factorul de activare plachetară, kinine ș.a.).

Șoc endotoxinic. Se datorează pătrunderii în circulație a unei mari cantități de endotoxină care eliberează interleukine și activează intempestiv, necontrolabil complementul (☞ Șoc septic).

Șoc septic. Nume dat reacției sistemice la pătrunderea în circulație a LPS, acidului lipoteichoic, fragmentelor de peptidoglican cu structură tridimensională, care declanșează eliberarea de interleukine sau/și activează complementul cu variate efecte asupra termoreglării și controlului presiunii arteriale. Simptomele includ: febră, prăbușirea tensiunii arteriale, coagulare intravasculară diseminată, detresă respiratorie acută și insuficiența funcțională a diverse sisteme.

T

T, celule. Clone limfocitare imunocompetente care se diferențiază în timus. După stimularea antigenică, în funcție de subpopulație, funcționează ca celule T ajutoare sau *helper* (T_H), T supresoare (T_S) sau T citotoxice (T_C).

T ajutoare, celule (T_H). Subpopulație a limfocitelor, care după stimularea antigenică activează macrofagele sau stimulează expansiunea populației de celule efectoare B (plasmocite) sau T (limfocitele T_C). Sunt individualizate prin markerul de suprafață CD4, care funcționează ca receptor pentru Fc al IgM și glicoproteina gp 120 a virusului imunodeficienței umane.

T_C (citotoxice), celule. Subpopulație a limfocitelor T specific ucigașă pentru celulele infectate cu un patogen intracelular.

T supresoare, celule (T_S). Subpopulație a limfocitelor T, care după stimularea antigenică limitează expansiunea clonală a limfocitelor B sau T. Sunt individualizate prin markerul de suprafață CD8.

Taxonomie (gr. *taxis* ordonare, aranjare; *nomos* obicei având forță de lege). Biol. Știință care studiază legile clasificării și identificării organismelor vii. Un sistem de clasificare a organismelor vii este corect numai în măsura în care respectă filiația genetică a acestora.

Taxonomie computerizată ☞ Taxonomie numerică

Taxonomie genetică. Metodă de clasificare a bacteriilor pe baza omologiei structurale a acizilor

nucleici. Este mai apropiată de clasificarea filogenetică naturală, dar puțin accesibilă laboratoarelor obișnuite.

Taxonomie numerică. Metodă de clasificare a bacteriilor pe baza a numeroase caractere fenotipice (cel puțin 100) prin care analiza computerizată stabilește grupări de tulpini care capătă rang de specie.

Tazobactam. β-lactamină fără activitate antibiotică *per se*, dar inhibitor puternic al β-lactamazelor.

Teichoici, acizi (gr. *teichos* perete). Polimeri ai unui zahăr fosforat sau zahăr-alcool fosforat asociați peptidoglicanului bacteriilor gram-pozitive; stimulează eliberarea citokinelor și declanșarea răspunsului inflamator ș.a.

Teicoplanină. Antibiotic glicopeptidic.

Teratogen (gr. *teras*, *teratos* monstru; *gennan* a naște, a produce). Care determină nașterea unui copil malformat.

Termofile (gr. *thermos* cald; *philos* prieten). Bacterii pentru care temperatura optimă de creștere este între 55-75°C.

Tetanică, toxină. Neurotoxină A-B produsă de *Clostridium tetani*; acționează prin clivarea sinaptobrevinelor; cauzează paralizii spastice.

Tetanos (gr. *tetanos* rigid, încordat). Paralizie spastică determinată de toxina tetanică.

Tetraciline. Familie de antibiotice care inhibă sinteza proteică a bacteriilor prin legarea la subunitatea ribosomală 30 S.

Tibialgică, febră ☞ Febră de tranșee

Titru (fr. *titre standard*). 1. Chim. Raportul dintre masa substanțelor solvite și volumul total al soluției. 2. Imunol. Diluția maximă a unui reactant imunologic (anticorp sau antigen) la care mai este vizibilă reacția cu cantități constante și definite ale reactivului omolog. 3. Virol. Numărul unităților infectante sau formatoare de plaje raportat la volumul suspensiei virale ș.a.

TNFα (Tumor necrosis factor) ☞ Factorul α de necroză tumorală

Toxiinfecție alimentară. Îmbolnăvire acută cu incubatie scurtă (1-48 ore), care apare mai frecvent epidemic, exploziv, după ingestia unui aliment în care anumite microorganisme s-au multiplicat și au elaborat toxine.

Toxina sindromului șocului toxic (TSST). Toxină produsă de unele tulpini de *Staphylococcus aureus*; superantigen.

Traheală, citotoxină. Fragment de peptidoglican al *Bordetella pertussis* care omoară celulele ciliate ale epiteliului respirator și stimulează eliberarea IL-1.

Transducție (lat. *trans* peste, dincolo; *ducere* a trage, a duce). Transfer de material genetic de la o bacterie la alta prin intermediul unui bacteriofag (denumit fag transductor). Transducția se poate produce accidental sau poate fi specializată, când sunt transferate prin intermediul fagilor anumite gene specifice de la o bacterie la altă bacterie, diferită genotipic. Bacteria transdusă dobândește astfel caractere noi (proprietăți metabolice, rezistență la antibiotice) în relație cu genele transmise.

Transferină. Glicoproteină sintetizată de ficat; acționează ca și chelator de fier în țesuturi și sânge.

Transformare celulară. Dobândirea de către celulă a uneia sau mai multor caracteristici proprii celei maligne: pierderea inhibiției de contact, creștere nelimitată, independență față de factorii de creștere ai serului ș.a.

Transformare genetică. Modalitate de transfer genetic realizat când bacteria receptor acceptă ADN liber provenit de la o bacterie donor.

Translocare (lat. *translocatio* schimbare de loc). Biol. 1. Pinocitarea subunității A a unei toxine A-B. 2. Endocitarea unei bacterii din lumenul intestinal (mai ales prin celulele M ale plăcilor Peyer, specializate în captarea antigenică) cu eliberarea ei în corion. 3. Proces prin care IgA dimerizate prin piesa secretorie traversează epiteliul secretor din corion spre suprafața luminală, protejate de acțiunea enzimelor lizosomale.

Transpeptidare (lat. *trans* dincolo de, prin; fr. *peptide* moleculă constituită prin înlănțuirea unui mic număr de aminoacizi). Legarea încrucișată a

subunităților și punților peptidice ale lanțurilor de glican.

Transpozază. Enzimă care catalizează deleția și inserția elementelor transpozabile în genomul bacterian.

Transpoziție (lat. *trans* peste, dincolo; *positio* punere de la *ponere* a pune). Modalitate a recombinării genetice prin care copii ale unor secvențe ADN specifice (secvențe de inserție sau transpozoni, ☞ acet termen) suferă o deleție urmată de inserție aleatorie într-o genă a cromosomului sau plasmidelor bacteriene.

Transpozon (lat. *trans* peste, dincolo; *positio* punere de la *ponere* a pune). Element transpozabil cu dimensiuni de 3-20 kb flancat de 20-40 pb, recunoscute de transpozaze; conține gene care codifică propriile transpozaze (eventual represori ai acestora) și gene exprimate în fenotipul bacteriei gazdă prin rezistență la antibiotice, factori de virulență, unele activități biochimice.

Transport activ. Transportul ionilor sau al moleculelor, la nivelul membranei celulare, împotriva unui gradient de concentrație sau de potențial; necesită consum de energie.

Tranziție, specie de. Specie microbiană care colonizează tranzitoriu învelișurile organismului asimilând condițiile de mediu induse de către speciile pionier.

Treponeme (gr. *trepein* a înrula, a întoarce; *nema* fir). Gen al spirochetelor.

Trimetoprim. Antibiotic care blochează sinteza acidului folic prin inhibarea dihidro-folat reductazei. Are efect antibacterian sinergic în asociere cu sulfonamidele.

TSS ☞ Sindromul șocului toxic

TSST ☞ Toxina sindromului șocului toxic

Tuberculină (lat. *tuberculum*, dim. de la *tuber* umflătură, excrescență). Tuberculina brută, adică filtratul unei culturi de *Mycobacterium tuberculosis* de 6 săptămâni în bulion glicerinat, autoclavată și concentrată până la 1/10 din volumul inițial. Sin.: vechia tuberculină a lui Koch.

Tulpină. Populație microbiană constituită din descendenții unei singure izolări în cultură pură, pe care cercetătorul o manipulează în scopul studierii.

Tyndallizare (John Tyndall, fizician englez de origine irlandeză, 1820-1893). Metodă de sterilizare prin încălzire discontinuă la temperatură relativ joasă, utilizată când materialul care trebuie sterilizat riscă să fie alterat sau distrus la temperatura autoclavului sau prin fierbere. Procedul curent utilizat constă în încălzirea produsului în baie de apă (bain-Marie) reglată la temperatura de 56°C, timp de o oră, trei zile consecutiv, la interval de 24 de ore.

U

Ulcer (lat. *ulcus* rană). Pierdere de substanță la nivelul pielii sau al unei mucoase fără tendință la cicatrizare spontană.

Ulceratie (lat. *ulceratio* ulceratie, de la *ulcerare* a umple de răni). 1. Proces patologic care determină o soluție de continuitate la nivelul tegumentelor sau al mucoaselor, cu pierdere de substanță. 2. Ulcerul superficial rezultat din această pierdere de substanță.

Umflare a capsulei, test. Reacție între polizaharidul capsular al unei bacterii și anticorpul omolog. Complexul antigen-anticorp este mai refringent încât în microscopie dă o imagine mai mare a capsulei bacteriene. Testul este folosit pentru identificarea serovarurilor capsulare ale unor bacterii (e.g., *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*).

Unități structurale. Polipeptide a căror asociere ca atare formează capsida virală helicală sau capsomerele capsidelor icosaedrice.

UPEC ☞ *Escherichia coli* fenotipul uropatogen

Urează. Enzimă care catalizează descompunerea ureei, cu formare de dioxid de carbon și amoniac.

Uree, testul respirației cu. Metodă neinvazivă de diagnostic a infecției cu *Helicobacter pylori*. Pacientului i se administrează o doză de uree cu un izotop de C (^{13}C sau ^{14}C), apoi în aerul expirat este cantificat CO_2 marcat, rezultat din acțiunea ureazei *H. pylori* asupra ureei marcate.

Uremic, hemolitic sindrom ☞ Sindrom hemolitic uremic

Uretrită (lat. *urethra*, gr. *ourethra* uretră; -ită). Inflamația mucoasei uretrei.

V

V, factor. Factor de creștere al *Haemophilus*, identificat cu NAD. Prin tradiție numele *V* a rămas de la caracterul termolabil asemănător vitaminelor, constatat inițial.

Vaccin (lat. *vaccinus* referitor la vacă –*vacca*–, de la *vaccinā* variola vacilor, de la care s-a obținut primul vaccin). Preparat antigenic derivat dintr-un agent patogen specific sau puternic înrudit cu acesta, capabil să inducă, după administrarea (*per os* sau parenterală) la un subiect receptiv, un răspuns imun protector față de o anumită agresiune microbiană.

Vaccin acellular. Vaccin lipsit de celule, preparat prin purificarea componentelor antigenice ale microorganismelor patogene. În acest mod se elimină riscurile reacțiilor adverse ce pot fi declanșate de vaccinuri care conțin celule întregi.

Vaccin conjugat. Vaccin obținut prin conjugarea unei haptene polizaharidice cu o proteină *carrier*: e.g., polizaharidul capsular al *Haemophilus influenzae* serovar b, neimunogen *per se* la copii sub vârsta de doi ani; dobândește imunogenitate prin conjugare cu anatoxina tetanică.

Vaccinare. Metodă de prevenție a anumitor boli bacteriene, virale sau parazitare având ca scop determinarea unei imunități active prin introducerea în organism (pe cale orală, parenterală sau scarificare) a unor preparate denumite vaccinuri. Fiecare țară își are propria legislație în ceea ce privește vaccinurile obligatorii.

Vaginită (lat. *vagina* teacă; -ită). Inflamație a mucoasei vaginale.

Vaginoză. Disbioză vaginală caracterizată prin înmulțirea excesivă a *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, *Bacteroides* spp. eventual și a

micoplasmelor genitale, care înlocuiesc lactobacilii care predomină normal în microbiota vaginală. Pacientele au leucoree cu miros de pește stricat (datorat aminelor volatile rezultate din metabolismul bacteriilor anaerobe), pH peste 4,5 (datorat dispariției lactobacililor). Lipsește reacția inflamatorie. Pe celulele epiteliale vaginale descumate bacilii gram-pozitivi sunt înlocuiți cu aglomerări de *Gardnerella vaginalis*.

Variație de fază ☞ Fază, variație de

VDRL (engl. *Veneral Disease Research Laboratory* laborator de cercetare a bolii venerice). Test de floclare, rapid, dar nespecific, folosit pentru depistarea anticorpilor anti-*Treponema pallidum*; folosește ca antigen cardiolipinul.

Vector (lat. *vector* cel care transportă) Transmițător al unor microorganisme patogene.

Vegetativă, înmulțire. 1. Înmulțire asexuată a unei clone celulare eucariote sau procariote. 2. Înmulțirea plantelor prin bulbi, butași, stoloni.

Verotoxină. Toxină produsă de unele tulpini de *E. coli*, similară toxinei Shiga. Determină efect citopatic în culturile liniei celulare Vero.

Verruga peruană. Stadiul subacut sau cronic al infecției cu *Bartonella bacilliformis*. Evoluează cu o erupție cutanată de angioneogenează asemănătoare negilor.

Vi antigen. Antigenul capsular de virulență particular unor serovaruri de *Salmonella enterica* (Typhi, Paratyphi C, Dublin) și *Citrobacter* spp.

Vibriion (lat. *vibrare* a tremura, a scutura). Microorganism aparținând genului *Vibrio* în formă de bastonaș curbat asemenea unei virgule.

Vili ☞ Microvili

Vindecare clinică (lat. *vindicare* a elibera, a scăpa). Revenire la starea de sănătate a organismului, comparabilă cu cea dinaintea de boală.

Vindecare microbiologică. Vindecare a unei boli infecțioase în care dispariția semnelor și simptomelor clinice este dublată de dispariția din gazdă a microbului patogen.

Viremie (lat. *virus* venin, otravă; gr. *haima* sânge). Prezența de virusuri în circulația sanguină, de obicei însoțită de: astenie, febră, dureri difuze lombare și ale extremităților, erupții.

Virion (lat. *virus* venin, otravă). Particulă virală completă, aflată extracelular, capabilă să supraviețuiască sub formă cristalină și să infecteze celulele vii. Virionul cuprinde materialul genetic (nucleoidul) și capsida, eventual și anvelopa virală.

Virulență (lat. *virulentia*, de la *virus* venin, otravă). Expresia cantitativă a patogenității unui microorganism în doze limită mortale (DLM), doze letale 50% (DL₅₀) ș.a.

Virulență, factor. Structuri celulare, molecule sau mecanisme care contribuie la capacitatea unui microorganism de a provoca boală.

Virulență mecanism ☞ Virulență, factor

Virulență, plasmid de. Plasmide care poartă gene ale factorilor de virulență (e.g., la *Escherichia coli*, *Bacillus anthracis*).

Virus (lat. *virus* venin, otravă). Particulă infecțioasă formată dintr-un singur acid nucleic, fie ADN, fie ARN, și metabolic inert, lipsit fiind de orice mecanisme necesare sintezei proteice, producerii și stocării energiei. Ca atare, virusurile nu cresc, nu se divid, ci sunt doar reproduse de către celule pe care le parazitează.

Viroid (lat. *virus* venin, otravă; gr. *eidos* formă). Agent infecțios mai simplu decât un virus, redus la ARN fără capsidă. Este considerat ca un virus defectiv incapabil să dea naștere la virioni și este replicat de enzimele celulare. O serie de boli ale plantelor sunt cauzate de viroizi.

Volutină. Polifosfat anorganic depozitat în celulele procariote în granule metacromatice (se colorează în roșu cu albastru de metilen policrom). Granulațiile sunt caracteristice *Corynebacterium diphtheriae*, utile pentru identificarea microscopică.

X

X, factor. Factor de creștere al *Haemophilus*, identificat cu hemina. Numele X a rămas prin tradiție de la caracterul inițial necunoscut al acestui factor sanguin.

Xenotropic (gr. *xenos* străin; *tropos* răsucire). Oncornavirus, de cele mai multe ori endogen, care nu este replicat de gazda naturală, ci numai în celulele altor gazde.

Y

Yersinia bactivă. Chelator de fier produs de yersinii.

Yops (abrevierea de la engl. *yersinia outer membrane proteins*). Proteine ale yersiniilor, derepresate numai la 37°C și în lipsa ionilor de Ca²⁺. Codifică proteine ale sistemului de excreție

tip III (molecule care formează canale membranare implicate în fuziunea cu celulele eucariote și formarea porilor de injectare), proteine de reglare ca **lcr** (*low calcium response*) și proteine de virulență (e.g., factorul antifagocitar, toxine).

Z

Zona zoster ☞ Herpes zoster

Zoonoză (gr. *zoon* animal; *nosos* boală). Boală animală, care, eventual, poate fi transmisă la om, în anumite condiții naturale.

Zooplanton (gr. *zoon* animal; *plankton*, forma neutră a adj. *planktos* rătăcitor). Organismele animale care plutesc liber în apă.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

ARHIVA Catedrei de Bacteriologie a Facultății de Medicină – Universitatea din Iași (1914 - 1939)

ARHIVA Familiei Sturdza – Slătineanu

Documente personale: dr. Ion Alexa, fost conferențiar la Facultatea de Medicină din Iași; obținute prin bunăvoința doamnei conf. dr. Georgeta Săndulescu.

Documente personale: dr. Constantin Bart, fost șef de lucrări la Facultatea de Medicină din Iași; obținute prin bunăvoința domnișoarei biolog Hélène Bart.

BARON's MEDICAL MICROBIOLOGY (2000), Fourth Edition,

<http://gsbs.utmb.edu/microbook/toc.htm>

BARIÉTY, M., COURY, CH. (1963): *Histoire de la Médecine, Les grandes études historiques*, Fayard, Paris.

BÉBÉAR, C. (1993): *Histoire des Mycoplasmes*. În P. AUDINET „10 Germes, leur Histoire”, Ed. Laboratoire Pharmuka.

BOYCE, J.M. (1997): *Epidemiology and Prevention of Nosocomial Infections*. În Crossley, Archer (eds.) *The Staphylococci in Human Disease*; Churchill Livingstone, New York.

BROOKS, G.F., BUTEL, J.S., ORNSTON, L.N. (1995): *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology*, 20th ed., Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut.

BUIUC, D., NEGUȚ, M. (1999): *Tratat de Microbiologie Clinică*, Ed. Medicală, București.

BULLOCH, W. (1960): *The History of Bacteriology*, Oxford University Press, London.

CAJAL, N. (1990): *Tratat de Virusologie Medicală*, Ed. Medicală, București.

CANO, J.R., COLOME, J.S. (1988): *Essentials of Microbiology*, West Publishing Company, St. Paul.

CERNESCU, C. (2000): *Virusologie Medicală*, Ed. Medicală, București.

COLLIER, L., BALOWS, A., SUSSMAN, M. (1998): *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 9th ed. vol. 1 – 3, Arnold, London.

COLLIER, L., OXFORD, J. (1993): *Human Virology. A textbook for students of medicine dentistry and microbiology*, Oxford University Press, London.

DE KRUIF, P. (1934): *Hunger fighters*, Albatross Verlag G.M.B.H., Hamburg.

DUCLAUX, E. (1896): *Pasteur: histoire d'un esprit*, Masson & C^{ie}, Ed., Librairies de l'Académie de Médecine, Paris.

-
- DUERDEN, B.J., REID, T.M.S., JEWSBURY, J.M., TURK, D.C. (1992): *A new short textbook of Microbial and Parasitic Infection*, Arnold, London.
- GARRISON, F.H. (1929): *An introduction to the History of Medicine*, 4th ed., Saunders Company, Philadelphia.
- GEORGESCU, M. (1915): *Omagiu Profesorului Victor Babeş oferit de Societatea Studenţilor în Medicină*, Inst. Arte Grafice Carol Göbl, Bucureşti.
- GREENWOOD, D., SLACK, R.C.B., PENTHERER, J.F. (Eds.) (1993): *Medical Microbiology*, 14th edition, Churchill Livingstone, New York.
- HENRY, J.B. (1991): *Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods*, 18th edition, W.B. Saunders, Philadelphia.
- HOLLINGER, F.B., DIENSTAG, J.L. (1985): *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed., American Society for Microbiology, Washington D.C.
- HOLT, J.G., et al.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* vol. 1, 2, 8th ed. (1984), 9th ed. (1994), Lippincott William and Wilkins, Baltimore.
- HOSKINS, J.M. (1967): *Virological Procedures*, Butterworths, London.
- JACOB, F. (1972): *Logica Viului*, Ed. Enciclopedică Română, Bucureşti.
- KAYSER, F.H. şi colab. (1993): *Medizinische Mikrobiologie*, 8 Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JANDO, W.M., et al. (1991): *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 4th ed., J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
- LECLERC, H., GAILLARD, J.L., SIMONET, M.(1995): *Microbiologie Generale*, Doin Editeurs, Paris.
- LENNETTE, E. H., BALOWS, A., HAUSLER, W.J., TRUANT, J.P. (1985): *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- MAHON, C.R., MANUSELIS, G. Jr. (1995): *Textbook of Diagnostic Microbiology*, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- METCHNIKOFF, O. (1920): *Vie d'Elie Metchnikoff 1845 – 1916*, Librairie Hachette, Paris.
- MIMS, C.A., et al. (1993): *Medical Microbiology*, Mosby Company, St. Louis
- MONOD, J. (1991): *Hazard şi necesitate: eseu despre filosofia naturală a biologiei*, Ed. Humanitas, Bucureşti.
- MURRAY, R.P., ROSENTHAL, K.S., KOBAYASHI, G.S., PFALLER, M.A. (Eds.) (2002): *Medical Microbiology*, 4th edition, Mosby Company, St. Louis.
-

-
- MURRAY, R.P., BARON, E.J., PFALLER, M.A., TENOVER, F., YOLKEN, R.H. (1999): *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed., ASM Press, Washington D.C.
- MURRAY, R.P., BARON, E.J., PFALLER, M.A., YOLKEN, R.H. (Eds.) (2003): *Manual of Clinical Microbiology*, 8th edition, vol. 1, ASM Press, Washington D.C.
- MURRAY, P.R., ROSENTHAL, K.S., KOBAYASHI, G.S., PFALLER, M.A.(1998): *Medical Microbiology*, 3rd edition, Mosby-Year Book, St. Louis.
- MURRAY, R.P. (1998): *Pocket Guide to Clinical Microbiology*, 2nd edition, ASM Press, Washington D.C.
- NICOLA, T. (1999): Prof. dr. Ioan I. Gheorghiu. *Pagini Medicale Bârlădene*, anul II Nr. 18, pp. 2-3.
- NICOLLE, C. (1933): *Destin des Maladies Infectieuses*, Librairie Félix Alcan, Paris.
- PASCU, O., POPESCU, H., BÂRSU, Cr. (1999): *Școala clujeană de medicină și farmacie*, Ed. Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca.
- PASTEUR VALERY – RADOT, R. (1900): *La vie de Pasteur*, Ernest Flammarion, Ed., Paris.
- PASTEUR VALERY – RADOT, R. (1924): *Oeuvres de Pasteur*, vol. I – VI, Masson & C^{ie}, Ed., Paris.
- RUPP, M.E. (1997): *Infections of Intravascular Catheter and Vascular Devices*. În Crossley, Archer (eds.) *The Staphylococci in Human Disease*; Churchill Livingstone, New York.
- RUSU, V. (2001): *Dicționar Medical*, Ed. Medicală, București
- RUSU, V. (1996): *Nobel, Retrospectivă 1901 – 1995*, Ed. Omnia, Iași.
- SALYERS, A.A., WHITT, D.D. (2002): *Bacterial Pathogenesis: a Molecular Approach*, 2nd ed., ASM Press, Washington DC.
- SENEZ, J.C. (1968): *Microbiologie Générale*, Editions Doin Deren & C^{ie}, Paris.
- TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. (1998): *Microbiology*, 6th edition, Benjamin/Cummings Publishing Company, California.
- VIRELLA, G. (Ed.) (1997): *Microbiology and Infectious Diseases*, 3rd edition, Williams & Wilkins, Baltimore.
- WALDVOGEL, F.A. (2000): *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). În Mandell, Bennet, Dolin (eds.): *Principles and Practices of Infectious Diseases*, 5th ed., vol. 2, Churchill Livingstone, New York.
- WHITE, D.O., FENNER, F.J. (1986): *Medical Virology*, 3rd ed., Academic Press, London.

WONG, E.S. (1996): *Surgical site infections*. În Mayhall C. (ed.): *Hospital Epidemiology and Infection Control*, Williams & Wilkins, Baltimore.

ZARNEA, G.: *Tratat de Microbiologie Generală*, Ed. Academiei Române, București, vol. I – 1983, vol. II – 1984, vol. III – 1986, vol. IV – 1990, vol. V – 1994.

Au fost consultate colecțiile mai multor periodice (1990-2002), mai ales:

Antimicrobial Agents and Chemotherapy

British Medical Journal

Clinical Infectious Diseases

Clinical Microbiology Reviews

European Journal of Microbiology and Infectious Diseases

Infection and Immunity

Journal of Bacteriology

Journal of Clinical Microbiology

Journal of General Microbiology

Journal of Infectious Diseases

Journal of Medical Microbiology

The Lancet

Microbiology

Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)

The New England Journal of Medicine

Reviews in Medical Virology

Virology

INDEX ALFABETIC

I. INDEXUL NUMELUI DE PERSOANE

II. INDEXUL SUBIECTELOR

I. INDEXUL NUMELUI DE PERSOANE

A

Alexa, I IV
Alexander, M 84
Alphen, L V van 27
Amako Pl 4.5
Arber, W 13
Aristotel 2
Avery, O T 12, 73, 74, 78

B

Babeş, A 14
Babeş, V 8, 11, 13, 14, 120, 197, 310,
Pl. 1.2,2
Bacaloglu, C 14
Baltazard, M 112
Baltimore, D 13
Bancroft 8
Bariéty, M 261, 378
Barnard, C 431
Baroni, V 16
Bart, C IV
Barton, A L 276
Bassi, A 3
Bălteanu, I 17
Beadle, G W 12
Bébéar, C 272
Behring, E von 11
Berg, P 13
Bergmann, E von 8, 9, 430
Bishop J M 13
Boccacio, G 192
Bogdan, G 14
Bordet, J 11, 216
Borrel, A 265
Botez, M 16
Bruce, D 218
Büchner, E 7, 8
Büchner, H 11
Buffon, G L de 2
Bulloch, W 154
Butoianu, M 16

C

Cagniard-Latour, C 3
Cairns, J Pl. 2.1,3
Cantacuzino, Ion 10, 13-16, 280, Pl.
1.2,3; 1.3,1
Carrion, D 276
Carrol, L 1
Case, C L 42
Caspar, D L D 54
Chain, E B 431
Chamberland, C 5, 9

Ciucă, A 16

Ciucă, M 16, Pl. 1.3,3
Colomé, J S 44, 45
Combiescu, D 17
Comte, A 1
Condrea, P 17
Cono, R J 44, 45
Cornil, V 8
Costerton, J W Pl. 2.2,2; 2.3,1; 6.1,1
Costin, M 181
Coury, C H 261, 378
Cox, H R 283
Cox, N J Pl. 4.4,5
Crăciun, E 14
Crick, F 12, 13

D

Danielopolu, D 16
Darwin, Ch 95, 100
Davaine, C J 3, 5
Davies, J 142
Davis, B D 12
Delbrück, M 12, 70
Dienstag, J L 335, 338
Domagk, G 431
Drasar, B S 88
Duclaux, É 52
Duguid, J P Pl. 2.3,6; 2.4,1
Dukes, C 430
Dulbeco, R 13
Dusch, T von 2, 5

E

Ehrlich, P 11, 284
Eijkman, C 8
Escherich, T 18, 183

F

Falkow, S 95
Fauci, A S 343
Fenner, F J Pl. 4.3,1; 4.4,1-3
Ferran, J 10
Fleming, A 129, 430
Flexner, S 290
Florey, H W 129, 431
Flügge, C 9
Fracastoro, G 3
Francis, E 211
Fraser, D W 224
Funke, B R 42

G

Gallo, R 340
Garrison, F H 290
Gay Lussac, L J 3
Gengou, O 216
George, R C 431
Gessard, C 206
Gheorghiu, I 347, 349
Ghiaţă, D 17
Goldstein, F W 431
Gorescu, C 16
Gram, C 5
Graziosi, C 343
Griffith, F 12, 74
Guérin, A 7, 9

H

Halberstaedter, L 285
Halsted, W S 9, 430
Harden, d' 8
Hausen, H 61
Hayes, W 12
Herelle, F H d' 66
Hill, M J 88
Hippocrate 1
Hoffmann, E 261
Hollinger, F B 335, 338
Holmes, O W 7, 9, 430
Hoskins, J M Pl. 4.2,1; 4.2,2; 4.3,2
Humphrey, J M Pl. 6.1,4

I

Ionescu-Mihăieşti, C 16, Pl. 1.3,2
Irimescu, Şt 16
Iterson, van Pl. 2.2,4
Ivanowski, D 5

J

Jacob, F 13, 39, 68, 69, 77
Jenner, K 10
Jephcott, A E 173
Johnson, J 80
Joubert, J 9

K

Kaper, J B 184
Kavaoka, Y Pl. 4.4,5
Keller, E B 13
Kitasato, S 11
Kjelgaard, N 12
Knight 8

Koch, R 3-5, 8, 10, 11, 18, 95, 197,
212, 252, 383, Pl. 1.1,4
Krebs, H 8, 44, 45
Krienitz 203
Kunin, C M 431

L

Lancefield, R 161
Landsteiner, G 290
Lauf, R Pl. 5.1,2
Lavoisier, A L de 3
Lederberg, J 12
Leeuwenhoeck, A van 1, 5, Pl. 1.1,1;
1.1,2
Levaditi, C 14, 290
Lewis, M J 290
Linné, C 18
Lipmann, F 8
Lister, J 5, 7, 9, 231, 430, Pl. 1.2,1
Lochmann 8
Loeffler, F 227
Louria, S 12, 70, 78
Lucretius T L 2
Lupu, N G 16
Luschka, H von 378
Lutberger, B 27
Lwoff, A 12, 13
Lwoff 8

M

Mac Carty, M 12
Mac Farlane Burnet, F 283
Mackowiak, P A 86
Mac Leod, C 12
Magendie, F 378
Magheru, C 17
Mahon C R 132
Manicatide, M 14
Manuelis, G 132
Marbe, M 16
Marinescu, G 14
Markowitz, M 387
Marshal, B J 203
Mazel, D 142
McQuillen, K 68
Mecnikov, I 10, 11
Mégraud, F 197
Meyerhof, O F 8
Mironescu, T 14
Moise 10, 112, 173, 261, 423
Monod, J 13
Montagnier, L 340
Morton, W G 2
Mullis, K B 13
Murray, P R 88

N

Nasta, M 17
Nataro, J P 184
Nathans, D 13
Needham, J 2
Negri, A 310
Neisser, A L S 173
Neuberg 8
Newman, G F 340
Nicolau, I 17

Nicolau, Șt IV
Nicolau, Șt G 14
Nicolle, Ch 106, 112
Nietzsche, F 13
Nightingale, F 430
Nikolsky 157
Nobel, K 26
Nolan, N P C 431

O

Ogston, A 154, 383

P

Pacini, F 197
Palade, G E 21
Pantaleo, G 343
Pasteur, L 1, 3-5, 7-11, 120, 122, 161,
220, 233, 238, 310, 429, Pl. 1.1,3
Pavlovski, E N 319
Pepis, M B 366
Pereira, H G Pl. 4.1.1-3
Perroncito, E 10
Petri, R J S 5
Pfeiffer, R 11, 212
Piekarski 12
Pillot, J Pl. 2.3,5
Popa, Gr T 15, 17
Portier, P 11
Proca, G 14
Prowazek, S von 18, 278, 285
Prusiner, S B 353
Pușcariu, E 14

Q

Quincke, H 378

R

Ramplig, A 161
Ravaut, P 378
Rayer, P F 3, 5
Raulin, J 8, 9
Redi, F 2
Reiner, F 14
Richet, C 11, 356
Riegler, P 14
Ricketts, H T 278
Ritter, A Pl. 2.3,5; 2.4,2
Ritter, R von 157
Rosebury, T 88
Roșculeț, V 14
Rotta, J 387
Rous, F P 12, 347
Ruoff, K L 161

S

Sabin, A B 290, 294
Salk, J E 290, 294
Salmon D 188
Savage, D C 84
Schaudinn, F 261
Schultze, F 2, 5
Schröder, H 2, 5
Schroeter, J 206
Schwan, T 2, 5
Sédillot, C 4, 9
Sammelweiss I F 7, 9, 430

Shiga, K 183
Sicard, A 378
Simonovitch, L 12
Sion, V 14
Slătineanu, A III, IV, 10, 16, 212, 349,
Pl. 1.2,4; 1.3,1
Smith, H O 13
Snow, J 197
Sonea, S 71
Spallanzani, L 2, 5
Stanier, R Y Pl. 5.1,3
Stephenson, M 8
Stollerman, H H 387
Strasser, T 387

T

Takeya, Pl. 4.5
Tashjian, J H 88
Tatum, E L 12
Temin, H M 13
Teodorovici, G 292
Thuiller, L 10, 233
Tomasz, A 431
Tortora, G J 42
Traube, M 7, 8
Trevisan, V 220
Tyndall, J 5, 8, 9

Ț

Țupa, A 17

V

Valentine, R C Pl. 4.1, 1-3
Vasile, Sf., Episcop de Caesarea 430
Vasiliu, T 14
Vergilius Maro, P 235
Villier, E M de 61
Vogel 12

W

Waksman, S A 431
Warburg, O H 8
Warren, J R 203
Watanabe, T 431
Watson, J 12
Weiss, R A 343
Wermus, H 13
White, D O Pl. 4.3,1
White, R G Pl. 6.1,4
Widal, F 190, 378
Wilkinson, J F Pl. 2.4,1
Wolffhügel, G 5
Wollman, E 12, 13

Y

Young 8
Yersin, A 192

Z

Zamecnik, P C 13
Zilva 8
Zinder, N D 12
Zinsser, H 278
Zotta, G 17

II. INDEXUL SUBIECTELOR

A

A, proteină 155

Abces 3, 108, 154, 158, 160, 161, 172, 175, 196, 202, 220, 230, 234, 243, 246-251, 259, 283, 366, 379, **383-385**, 393, 394, 399, 407, 408, 410, 412, 413, 416

Acetilcolină 57, 310

Aciclovir 151-153, 320, 322, 323, 325, 415

Acid clavulanic. *Vezi Clavulanic acid*

Acid fusidic 138, 158

Acid N-acetil muramic 23

Acid p-aminobenzoic 139

Acidofil, organism 47

Acido-rezistenți, bacili 28, 29, 37, 45, 97, **252-260**, 362, 381, 386, 396

Acinetobacter 87, 88, 91, **209-211**, 435

Acizi nucleici 126, 127

- dezoxiribonucleic 12, 13, 18, 19, 22, 52-54, 57-65, 68-83, 95, 102, 125, 130, 138, 139, 141, 151-153, 164, 179, 217, 268, 277, 288, 313-316, 318-320, 323, 325, 327, 335-337, 340, 342, 345, 347-352, 363, 364

- clonare 82, 83, 95

- reparare 70, 71

- replicare 68-73, 75, 79

- hibridarea 80-83

- ribonucleic 7, 22, 52-54, 57-65, 78-82, 102, 130, 139, 141, 152, 153, 290, 296, 298, 308, 310, 329, 333, 336, 340-342, 345, 347-351

- de transfer 136

- mesager 22, 57, 58, 102, 132, 136, 310, 315, 316, **340**

- ribosomal 18

- sonde 80-82, 176, 253, 274, 288, 363, 364

Acizi teichoici. *Vezi Teichoici, acizi*

Acridină, derivați, acțiune

antimicrobiană 127

Actinomicete 23

Actinomicoză 247

Actinomyces 88, 91, 93, 139, 245, 248, **249-250**, 395

- *israeli* 91, 139, 215, 247

Adenilat ciclază 183, 191, 217

Adenită 108, 164, 193, 214, 222, 230, 234, 250, 254, 255, 259, 262, 270, 276, 277, 284, 287, 306, 320, 328, 344, 383, 384, 387, 425

Adenovirusuri 53, 55, 58, 60, 61, 65, 80, 117, 297, 313, 314, **315-317**, 380, 389, 395, 399, 417, 419

Adezione 32, 91, 183, 184, 186, 198, 202, 204, 208, 213, 217, 234, 246, 273

Adjuvant 26, 97

ADN. *Vezi Acid dezoxiribonucleic*

ADP-riboziltransferază 97

Aerob, organism, definiție 44, 47

Aerobactină 96, 210

Aerogenă, infecție 115, 218, 230, 254, 257, 289, 304, 305, 307

Aerotolerant, organism, definiție 44

Aflatoxină 348, 351

Agammaglobulinemie 102, 103, 118, 393, 433

Agar 41

Aglutinare, reacții 182, 185, 199, 217, 219, 225, 228, 266, 269, 270, 280, 283, **368-369**

- coaglutinare 155, 162, 166, 171, 185, 363, 364, **369**, 382, 390, 419, 422

- latexaglutinare 156, 162, 166, 171, 178, 185, 280, 323, 345, 363, 364, 366, **369**, 382, 390, 419, 422

- la tub 222, 325, **368**, 422

- pe lamă 194, 270, **368**, 422

Aglutinine 218-220, 222, 270, 273, 274

Agresine 96, 104

Albastru de metilen, colorație 22, 29, 37, 175, 227, 235, 237, 381, 409, 411, 413, 420

Alcoolii, ca agenți de decontaminare 127

Alelă 69, 70, 72

Alergie. *Vezi Sensibilizare, reacții*

Alfa-hemolizina 155

Alphavirus 329

Algă albastră 4, 6

Alginat 207, 359

Alchilanți, agenți, ca dezinfectanți 127, 128

Alveolită 225, 373, 374

Amantadină 151, 300, 301

Amfotropic 349

Amigdalită. *Vezi Angină*

Amikacină 135, 136, 208, 210, 259

Aminoglicozide 130, 140, 141, 149, 168, 169, 172, 176, 180, 194, 196, 201, 203, 208, 210, 211, 248, 250, 374, 435, 436

Aminopeniciline 133, 140, 148, 168, 169, 172, 194-196, 201, 214

Amoniu quaternar, compuși de 120, 126, 127

Amoxicilină 133, 145, 180, 203, 205, 217, 249-251, 268, 271,

Ampicilină 133, 145, 149, 168, 169, 172, 191, 203, 214, 215, 233, 244, 271

Amplificare genică 13, **82**, 225, 229, 253, 268, 270, 273, 275, 277, 288, 289, 297, 300, 309, 314, 316, 320, 321, 323, 332, 335, 339, 345, 363, 419

Anaerob 43, 44, 86, 87, 89-93, 99, 132, 133-140, 360, 364, 372-376, 384-386, 389, 391, 394, 395, 397, 401, 403, 406, 407, 410-412, 422, 436

- definiție 43

- facultativ 44, 87, 90, 135, 136, 143, 385, 395, 406

- strict 44, 87, 90, 360, 385, 406

- aerotolerant 44

- nesporulat 87, **245-251**, 411, 432, 436

- sporulat. *Vezi Clostridii*

Anafilaxie 11, 99

Anatoxină 98, 99, 106, 117, 118, 158, 159, 214, 230, 241

Angină **387-392**

- difterică 228, 229, 390, 391

- Ludwig 164, 389

- streptococică 164-167, 388-390

- Vincent 247, 248, 391

Angiomatoză bacilară 277

Anilină, derivați 127

Antibiogramă 143, 159, 167, 171, 179, 188, 192, 211, 364, 365, 376, 377, 382, 390, 397

- difuzimetrică **143**, 145-147, 187, 382

- prin diluții **146**, 147

Antibiotice 26, 28, 41, 51, 54, 68-70, 73-75, 77, 78, 82, 93, 95, 110, 117, 126, **129-150**, 156-160, 167, 172, 176, 178, 179, 186-188, 190-196, 199, 201, 203, 205, 207-210, 215, 218, 221, 223, 226, 230, 237, 238, 243, 244, 246, 249, 250, 252, 258, 259, 264-266, 268, 270, 280, 283, 285, 289, 359, 363, 372, 374, 375, 378, 382, 387, 390, 396, 399, 404, 418, 419, 421, 429, 430, 432-436

- alegere, criterii **141-143**

- antituberculoase **134-135**, 256

- asociații de **148-149**, 422

- dozarea în umori 149

- mecanism de acțiune 130, **131-140**

- rezistență la 68, 73-75, 77, 78, 82, 110, 119, 131, **140-141**, 158, 159, 171, 176, 192, 193, 195, 196, 209, 221, 231, 251, 417, 431, 433, 435

- spectru de activitate **131-140**

Anticorpi. *Vezi și Imunoglobuline*

- blocați 219, 369

- heterofili 324, 325

- monoclonali 323, 369

- neutralizanți 166, 290, 293, 303, 309-311, 316, 323, 327, 332, 339

- opsonizanți 110, 166, 170, 213, 220, 225

Antigen(e)

- B 182

- F1 193

- H 182, 183, 185, 188, 189, 198, 207

- K 182, 183, 187

- O 28, 29, 182, 183, 185, 187-190, 196, 202, 207, 367
 - R 28, 207
 - Vi 182, 188-191, 196
 - Antigenic drift.* Vezi *Variație antigenică minoră*
 - Antigenic shift.* Vezi *Variație antigenică majoră*
 - Antisepsie 7, 112, 128, 159, 165, 208, 211, 283, 374, 430, 432
 - Antiseptic 7, 9, 29, 116, 121, **126-128**, 162, 195, 206, 252, 432, 433
 - Anti-Streptolizina O 166, 167, 367, 370
 - Antitoxină 11, 118, 229, 230, 240, 241, 367, 368, 370
 - Antivirali, agenți 150-153
 - Antrax 3, 5, 113, 120, **236-237**, 238
 - Anvelopă **52-53**, 57, 60, 65, 79, 80, 105, 298, 299, 302, 308, 310, 318, 319, 321, 322, 327, 329, 333, 335, 338-341
 - Apă oxigenată. Vezi *Peroxid de hidrogen*
 - Apărare antiinfecțioasă 86, 95, **100-105**, 356, 393
 - Apertură numerică 34-35
 - Arabinogalactan 29
 - Arbovirus 55, 62, **329-332**, 380
 - Areal 15
 - Arenaviridae* 57, 64, 153, **329**, 331, 332
 - ARN. Vezi *Acid ribonucleic*
 - Arheobacterii 23, 29
 - Arsuri, infecții 157, 164, 195, 196, 207-211, 320, 365, 383, 384, 386, 430, 435
 - Arthus, reacție 99
 - Asepsie 4, 5, 112, 372
 - Aseptic 8, 9, 36, 124, 125, 129, 358, 359, 374, 376, 379, 388, 427, 430
 - Aspergillus* 394
 - Aspirat
 - bronșic 396
 - hipofaringian 395, 396
 - nasofaringian 303, 388
 - pleural 395
 - otic 388
 - transtraheal 396
 - Astm bronșic 99
 - Atractant 23, 31
 - Atrezie biliară 296
 - Autoanticorp 273, 324, 343
 - Autoantigen 165
 - Autoclav 122-124, 128
 - Autoimun
 - boală 202, 263, 268, 345
 - mecanism 165, 304
 - Autotrof 40
 - Auxotrof 40, 77, 95
 - Axiale, filamente 28, 30, **31**, 261, 265, 267
 - Axistil 31, 268
 - Azitromicină 136, 167, 176, 188, 214, 259
 - Azlocilină 133
 - Azot, surse de 40
 - Aztreonam 134
- B**
- B, antigen 182
 - B, celulă. Vezi *Limfocit B*
 - B 19, virus 313, 314
 - Babeș-Ernst, corpi 22
 - Babeș-Negri, corpi 56, 310, 311
 - Bacil 23, 25
 - Bacillus* 22, 32, 37, 46, 73, 87, 88, 96, 107, 123, 125, 135, **235-237**, 393, 424, 427, 428
 - *anthracis* **235-237**
 - *cereus* 107, 235, **237**, 384, 424, 427, 428
 - *megaterium* 37, 235
 - *polymixa* 135
 - *pumilus* 125
 - *stearothermophilus* 123
 - *subtilis* 124, 128, 235, **237**
 - Bacitracină 134, 166, 167, 390
 - Bactericid, definiție 120
 - Bacteridie cărbunoasă 5, 10
 - Bacteriemie
 - definiție 108
 - spectru etiologic 373
 - Bacterii
 - clasificare 15
 - coloranți pentru 22, 26, 32, 37
 - creștere 48-51
 - cromosom 22, 68
 - incluzii 22
 - mobilitate 30, 31
 - morfologie 25
 - nutriție 39-42
 - perete celular **23-29**
 - ribosomi 22
 - Bacteriocine 93, 96
 - Bacteriofag 19, 27, 29, **66-67**, 73, 76, 155, 219
 - β 228
 - λ 27, 66
 - Mu 66
 - temperat 12, 66
 - vegetativ 66
 - virulent 66
 - Bacterioliză 11, 66, 105
 - Bacteriostatic, definiție 120
 - Bacteriurie 398, 401, 403, 404
 - Bacteroides* 88, 91, 92, 94, 99, 245-249, **250-251**, 373, 383, 384, 407, 409, 416
 - Barieră
 - ecologică 100
 - imună a mucoaselor 103
 - Bartolină 175, 407-409
 - BCG 110, 256, **257**, 260
 - Bejel 264
 - β -galactozidază 69
 - β -hidroxidecanoic, acid 28
 - β -hidroximiristic, acid 28
 - β -lactamic, antibiotic 69, 131, 132, 134, 137, 141, 147-149, 159, 176, 208, 210, 211, 214, 246, 249-251, 272, 404, 435
 - β -lactamază 69, 133, 134, 141, 145, 148, 149, 159, 167, 172, 176, 179, 180, 194-196, 210, 214, 246, 248-251
 - Bifidobacterium* 86, 88, 92, 93, 245, **250**
 - Biloliză, test 171
 - Biocenoză. Vezi *Microbiocenoză*
 - Biofilm 249
 - Biopsie 234, 248, 255, 314, 344, 355, 359, 360, 385, 386, 396
 - cerebrală 320
 - cutanată 260, 277, 280
 - ganglionară 219, 277
 - gastrică 203-205
 - pulmonară 225
 - uterină 314
 - Biotip. Vezi *Biovar*
 - Biotop 86
 - Biovar, definiție 19
 - Biseptol. Vezi *Cotrimoxazol*
 - Blastomyces* 395
 - Blenoragie 175, 176
 - Boală
 - Brill-Zinsser **279-281**
 - contagioasă 1-3, 10, 11, 52, **108**, 304, 305, 327
 - Creutzfeld-Jacob 354, 355, 437
 - diareică 94, 97, 183, 184, 201, 296, 297, **418-421**
 - din Bornholm **292**
 - ecologică 94
 - fusospirochetoică 248
 - granulomatoasă cronică 157
 - gură-mână-picior **291**, 292
 - Hansen 258
 - infecțioasă 4, 15, 20, 94, 100, **105-111**, 112-114, 119, 252, 356, 363, 365
 - inflamatorie pelvină 175, 346, 406, 407, 410
 - Kuru 354, 355
 - legionarilor 225
 - Lyme 265, **267-268**, 371
 - parodontală 201, 215, 246, 247, 249, 251
 - poststreptococică 119, 164-167, 387
 - prionică **353-355**
 - Ritter 157
 - sărutului 325
 - serului 118, 336
 - vacii nebune 354, 437
 - Weil 270
 - zgârieturii de pisică **276**, 277
 - Bordetella* 99, 136, 211, **216-218**, 388, 393, 394
 - Borrelia* 31, 68, 97, 108, 261, **265-268**, 361, 362
 - Botulinică, toxină 97, 98, 110, 239, 240, 426
 - Botulism 239-240
 - Branhamella catarrhalis*. Vezi *Moraxella catarrhalis*
 - Bronșiolită 302, 305, 393

- Bronșită 170, 171, 180, 213, 220, 273, 288, 302, 393-395
 Brucelină 219, 222
Brucella 122, 218-220, 222, 364, 373, 375
 Bruceloză 113, 114, **218-220**, 366, 368, 374, 377, 399
 Bubon
 - pestos 193
 - tularemic 222
 Buletin de analiză 356, 360, 361
Bunyaviridae 57, 64, 153, 329-331
 Burkitt, limfom 324
- C**
 C, polizaharid-161, 162, 166, 169
Caliciviridae 64, 297
 Caliciformă, celulă 299
 Calmodulină 217
 CAMP, factor 168
Campylobacter 29, 88, 136, **201-203**, 418-422, 425, 428
 Cancer 54, 55, 61, 67, 94, 168, 250, 314, 333, 337, 344, 347-352, 411
Candida 88-93, 346, 380, 384, 389, 406, 409, 410, 417, 436
 Candidoză 95, 344, 409
 Capsidă 52-54, 60, 64, 66
 - simetrie 53, 64, 65
 Capsomer 53, 62, 64, 65
 Capsulă 12, 30, 70, 73, 77, 78, 104, 110, 117, 155, 161-163, 168-171, 174, 177-179, 181, 186, 187, 193, 195, 202, 208-210, 212-214, 216, 220, 221, 234-236, 246, 249, 250, 279
 Carantinare 113
 Carate. Vezi *Pinta*
 Carbapeneme 130, 132, 134, 140, 171, 251
 Carbenicilină 133
 Carbon, surse în nutriția bacteriană 39, 40
 Carbohidrați, fermentare 44
 Carboxifil, organism 40, 47
 Carboxipeniciline 133, 201
 Carbuncle 157
 Carcinogen 67, 93, 337, 347, 348, 351
 Carcinogeneză 347
 Carcinom
 - ano-rectal 344
 - col uterin 344, 348, 352
 - colon 250
 - gastric 204
 - hepatocelular 247, 337, 339, 348, 351, 352
 - mamar 350
 - nasofaringian 324, 348, 352
 Cardiopilină 262, 263
 Cariogeneză 94, 101, 172
 Catalază 18, 19, 44, 154, 155, 158, 161, 172, 173, 180, 181, 188, 197, 203, 204, 206, 218, 220, 227, 231, 233, 235, 238, 252, 391
- Cateter 160, 195, 196, 207, 209, 210, 231, 373, 377, 430, 432-434
 Cazeum 255
 Căldura, agent antimicrobian 121-124
 Cefalosporine 130, **133**, 145, 147-149, 172, 179, 180, 187, 195, 234, 244, 250,
 - Cefalexină 133, 217
 - Cefalotină 133, 202, 230
 - Cefamandol 133, 249
 - Cefazolină 133
 - Cefoperazonă 133, 203, 208
 - Cefotaximă 133, 171, 179, 214
 - Cefoxitină 133, 243, 249, 259
 - Cefprozidimă 133, 208, 210, 233
 - Cefprozidimă 133
 - Ceftriaxonă 133, 171, 176, 179, 188, 191, 214, 215, 268
 - Cefuroximă 133, 171, 268
 - generația 1 167, 194, 195, 196
 - generația 2 167, 171, 201, 214
 - generația 3 171, 194, 195, 196, 201, 214
 - generația 4 133, 195
 - orale 167, 214, 218
 Cefalosporinaze 141, 195, 196
 Celulă
 - B. Vezi *Limfocit B*
 - M 96
 - NK 320
 - ucigașă 99, 105, 336
 - T. Vezi *Limfocit T*
 Cervicită 175, 287, 288, 407, 409, 410
 CFA I și CFA II 183
 Cheie dihotomică 19
 Chelator de fier
 - bacterian 96, 99, 193
 - al gazdei 96, 100
 Chemostat 51
 Chemotaxia
 - bacteriilor 31
 - leucocitelor 103, 157, 186, 204
 Chimiototrof 43
 Chimioorganotrof 43
 Chimiofilaxie 119
 Chimioterapie 129
 Chinolone 138-140
Chlamydia 6, 286
 - *trachomatis* 107, **286**, 394, 415, 416
Chlamydomonas
 - *pneumoniae* 286, **288-289**, 387, 389, 393, 394
 - *psittaci* 286, **289**, 393
 Choriomeningită limfocitară, virus 61, 331
 Cianobacterie 4
 Cicloserină 256
 Ciclosporină 346
 CID Vezi *Coagulare intravasculară diseminată*
 CIE. Vezi *Contraimunoelectroforeză*
 Ciliat 84, 177, 217, 224, 299, 308
 Ciprofloxacin 138, 145, 176, 191, 193, 194, 208, 230, 249
- Cistită 316, 398, 399
 Citobacterioscopie cantitativă 362, 396, 403
 Citocrom 18, 22, 44
 Citokine 97, 155, 204, 273, 340, 342-344
 Citolitic-citotoxice, reacții 99, 304, 333, 336,
 Citomegalic, virus 62, 152, 318, **322-323**, 342, 348, 352, 365-367, 399, 414
 Cițopatic, efect
 - bacterian 97, 183, 202, 244
 - viral **54**, 55, 61, 63, 97, 293, 302, 305, 306, 318, 319, 322, 328, 344, 339, 340, 343, 370
 Citoplasmă bacteriană 21, 22
 Citoschelet 23, 243
 Citotoxic, efect 155, 193, 204, 208, 217, 243, 263, 273, 419
 Citotoxicitate mediată celular anticorp-dependentă 99, 105, 283, 343
 Citotoxină 30, 97, 155, 183, 184, 187, 200, 202, 204, 208, 220
 - traheală **217**
Citrobacter 181, 183, 195, **196**
 Claritromicină 136, 137, 167, 205, 259
 Clavulanic, acid 133, 141, 145, 180, 195, 203, 211, 249
 Climax, comunitate de organisme 86
 Clindamicină 137, 167, 234, 237, 244, 249, 251, 275
 Clofazimină 259, 260
 Clonă 15, 28, 61, 70, 75, 77, 78, 81
 Cloramfenicol 129, 130, **136**, 141, 179, 191, 193, 201, 203, 214, 223, 249, 250, 280
 Cloramfenicol acetil-transferază 141
Clostridium 18, 22, 32, 71, 87, 88, 92, 93, 96, **238-244**, 384
 - *botulinum* 98, 110, **239**, 426, 427
 - *difficile* 88, 92, 95, 132, **243-244**, 419, 422, 431, 435
 - *perfringens* 87, 88, 92, 93, 97, 168, **242-243**, 373, 424,
 - *tetani* 98, 110, **240-241**,
 Cloxacilină 132, 141, 159
 CMB. Vezi *Concentrație minimă bactericidă*
 CMI. Vezi *Concentrație minimă inhibitoare*
 Coaglutinare 155, 185, 363, 364, **369**, 382, 390
 Coagulare intravasculară diseminată 97, 177, 178, 270
 Coagulază 154-157, 193, 392
 Coc 23, 25
Coccidioides immitis 395, 436
 Codon 71, 78
 Col, factor 75
 Colagenază 96, 102, 242, 246, 249, 250
 Colicine. Vezi *Bacteriocine*
 Coliform, bacil 87, 99, 182, 195, 384, 404, 412, 421, 432, 433, 435
 Colistin 135, 248

- Colită
- postantibiotice 132, 137, 155, 156
 - pseudomembranoasă 95, 238, 244, 419, 421, 431, 435
- Colon, microbiotă 92
- Colonie bacteriană
- definiție 41
 - aspecte 49
- Colonizare 86-95
- Colorație
- albastru de metilen 37
 - diferențială
 - - Gram 26, 29, 32, 37
 - - Ziehl-Neelsen 32, 37-38
 - negativă 30
 - speciale 30, 32
- Comensalism 84
- Competență, stare de 74
- Complement, sistem 11, 28, 29, 84, 97, 99, 101-105, 108, 119, 155, 163, 166, 169, 175, 177-179, 202, 208, 213, 214, 246, 250, 266, 267, 269, 274, 283, 324, 336, 374
- cale alternativă 28, 102, 163
 - cale clasică 99, 103, 105
- Complex de atac 103
- c-onc*, gene 350
- Concentrație minimă
- bactericidă 130, 131, 147, 159
 - inhibitorie 130, 131, 143, 146, 147, 159, 167, 169, 171, 179
- Condensator 35
- Condiloma acuminata* 61
- Congelare, efect asupra microbilor 125
- Conjugare 69, 73, 74-76, 77, 141
- Conjugativ, plasmid 69, 74,
- Conjugon 69, 74, 75
- Conjunctivă, microbiotă 89
- Conjunctivită 170, 175, 176, 180, 212, 213, 229, 287, 288, 292, 304, 316, 415
- Conservant. Vezi *Prezervant*
- Contaminare, condiții de risc 128
- Contraimuno-electroforeză 178, 364, 382
- Coprocultură 185, 188, 190, 194, 199, 240, 418-421
- Cordfactor 253, 254
- Coronavirus 60, 64, 308-309, 389, 419
- Corynebacterium* 22, 29, 87, 88, 90, 91, 93, 227-231,
- *diphtheriae* 22, 98, 228-230, 387, 389
 - *jeikeium* 137, 230-231
 - *ulcerans* 98, 230
 - *urealyticum* 231, 399, 403
- Cotrimoxazol 140, 159, 187, 188, 191, 217, 220, 233, 390
- Cowdry, incluziuni 319-320
- Cowpox, virus 328
- Coxiella burnetti* 122, 278, 283, 393, 394, 397
- Coxsackie, virus 291-293, 380, 389, 415
- Creștere bacteriană 48-51
- Creutzfeld-Jacob, boală 354, 355, 437
- Crezoli 127
- Criodesicare. Vezi *Liofilizare*
- Crio-electronmicroscopie 52
- Cryptosporidium* 344
- Cromogen, substrat 370, 371
- Cromosom procariot 6, 12, 22, 66, 68-69, 71-73, 75, 76
- Crup 229, 389, 392
- Cryptococcus neoformans* 344, 380, 381, 395
- Cultivare
- bacterii 48-51
 - virusuri 54-56
- Culturi de celule 54-55, 117, 118, 183, 186, 244, 278, 280, 285, 288, 290, 293, 296, 300, 303, 306, 308-310, 312, 316, 319, 320, 322-325, 328, 332, 334, 340, 344, 363, 370, 422
- D**
- DAEC. Vezi *Escherichia coli* aderent difuz
- Dakin, soluție 127
- Dalfopristină 137, 159, 172
- Dane, particule 335
- Dapsonă 139, 260
- Debridare 241
- Declin, fază a creșterii bacteriene 51
- Decontaminare 120-129
- Denga, virus 330
- Dermonecrotică, toxină 217
- Desmosom 156
- Desicare, efect antimicrobian 125
- Detergenți, agenți antimicrobieni 127
- Dezinfectant 126-127
- Dezinfecție, definiție 120
- D-glutamic, acid 236
- Diagnosticul infecției 356-371
- metode directe 358-365
 - metode indirecte 365-367
- Diaree. Vezi *Boală diareică*
- Dieterle, colorație 396
- Difosfopiridinucleotidază 164
- Difteric, bacil 113, 388, 391, 392
- Difterie 98, 108, 113, 118, 228-229, 230, 367, 388, 390-392
- Difterică, toxină 97, 98, 228, 229, 230, 367
- Difterimorfii, bacili 87, 89, 93, 227, 230, 373, 375,
- Digestiv, tractus
- condiție micobiologică 90-92
- Dinamică semnificativă a anticorpilor 367
- Dipicolinat de calciu 32
- Disbioză 94, 119, 356
- Disgonic 257
- Dizenterie
- amibiană 113
 - bacilară 107, 108, 111, 187-188, 418
- Dizenteriform, sindrom 184, 202, 419, 424, 425
- DLM. Vezi *Doză limită mortală*
- DL₅₀. Vezi *Doză letală 50%*
- Döderlein, bacili 93
- Doxiciclină 136, 176, 194, 220, 259, 264, 266, 268, 271, 277, 280
- Doză limită mortală 95
- Doză letală 50% 95
- Dr, adezină 102
- DTP, vaccin. Vezi *Vaccin anti-diftero-tetano-pertussis*
- E**
- EAggEC. Vezi *Escherichia coli* enteroagregativ
- Ebola, virus 331
- ECAD. Vezi *Escherichia coli* aderent difuz
- ECEAg. Vezi *Escherichia coli* enteroagregativ
- ECEH. Vezi *Escherichia coli* enterohemoragic
- ECEI. Vezi *Escherichia coli* enteroinvaziv
- ECEP. Vezi *Escherichia coli* enteropatogen
- ECET. Vezi *Escherichia coli* enterotoxigen
- Echovirus 55, 291-293, 380, 389
- Eclipsă, perioadă 56, 66
- Ecotropie 349
- Ectopică, sarcină 406
- Edematogen, factor 236
- EF-2. Vezi *Factor de elongare 2*
- Efect populațional 121
- Eficiența agenților antimicrobieni
- factori care o influențează 120-121
 - indicatori 123, 124
- Eficiență, teste de laborator 358
- EHEC. Vezi *Escherichia coli* enterohemoragic
- Ehrlichia* 278, 284
- Ehrlichioza* granulocitară umană 284
- EIEC. Vezi *Escherichia coli* enteroinvaziv
- Eikenella* 88, 90, 91, 215
- Elastază 208, 246
- Elastină 208
- Elek, test 229, 391
- Electroforeză 81, 225, 368
- imună contracurent Vezi *Contraimuno-electroforeză*
 - în câmp pulsatil 19
 - multiloculară 19, 179
- Elementar, corp 285-287
- ELISA 156, 185, 222, 229, 268, 270, 274, 280, 288, 293, 296, 297, 300, 303, 305, 306, 309, 312, 320, 322, 325, 332, 334, 335, 337-339, 344, 345, 363, 364, 370-371, 390, 397, 408
- El Tor 198
- Embrioni de pasăre 54, 55, 117, 118, 278, 280, 283, 285, 286, 288, 300, 310, 312, 327, 328

- Emergentă, boală 341
- Encefalite 217, 232, 267, 279, 283, 291, 292, 321, 326, 341, 378-380
- arbovirale 330, 332
 - herpetică 152, 320
 - postvaccinală 218
 - rubeolică 306, 307
 - rujeolică 304
 - urliană 303
- Encefalopatie spongiformă 353, 354
- Endemic, definiție 110
- Endocardită 108, 131, 141, 146, 158, 160, 161, 165, 168, 170, 172, 175, 180, 207, 210, 215, 229-232, 234, 237, 248, 277, 283, 289, 365, 366, 373, 374
- Endogenot, definiție 71
- Endometrită 141, 168, 183, 270, 287, 407, 411
- Endonucleaze de restricție 70, 72, 80-82
- Endosimbioză 96
- Endospor 21, 32, 40, 46, 51, 96, 120, 122, 125, 126, 235-239
- Endotoxină 29, 97-99, 102, 110, 174, 175, 177, 183, 188, 202, 208, 212, 210, 218, 219, 225, 264, 266, 366, 382
- Endotoxinic, șoc. Vezi Șoc endotoxinic
- Energie, surse de 40-44
- Enterobacter* 133, 145, 181, 195, 373, 384
- Enterobacteriaceae* 181-196
- Enterocelină 96
- Enterococcus* 92, 134, 136, 140, 141, 148, 161, 172, 384
- *faecalis* 137, 172, 435
 - *faecium* 172, 213, 435
- Enterococi 74, 86, 87, 93, 130, 133, 134, 137, 149, 172, 217, 373, 399, 431, 435
- Enterotoxină 99, 184, 185, 188, 191, 193, 200, 202, 242, 243, 419, 422
- *Escherichia coli* 183-185
 - *Klebsiella pneumoniae* 195
 - *Shigella dysenteriae* 187
 - *Staphylococcus aureus* 97, 156, 158, 424
 - termolabilă (LT) 183
 - termostabilă (ST) 183
 - *Vibrio cholerae* 198, 199, 200
- Enterovirus 290-294, 367, 379, 382, 395, 437
- EPEC. Vezi *Escherichia coli* enteropatogen
- Epidemie, definiție 110
- Epiglotită 213, 214, 387, 389, 392
- Episom 68, 69, 73, 75
- Epitelioide, celule 253, 254
- Epstein-Barr, virus 318, 324-325, 348, 351, 352
- Eritem migrator 267
- Eritromicină 136-137, 159, 167, 176, 203, 215, 217, 226, 230, 237, 259, 266, 274, 275, 277, 390
- Eritrotoxină 163-166, 168
- Erizipel 142, 165
- Erizipeloid 234
- Erysipelothrix rhusiopathiae* 233-234
- Escară 266, 279, 383
- Escherichia coli* 46, 50, 69, 72, 86, 88, 92, 117, 125, 133, 181, 184, 193, 195, 209, 373, 383, 384, 394, 410, 412, 416, 417, 424, 428, 435
- patotipuri bacteriemice 187
 - patotipuri diareigene 184-186, 365, 419, 422
 - - aderent difuz 184-185
 - - enteroagregativ 184-185
 - - enterohemoragic 183, 185, 186, 420, 422, 424, 428
 - - enteroinvaziv 184-187, 420, 421, 422, 424, 428
 - - enteropatogen 184, 416, 419, 420
 - - enterotoxigen 183, 184, 186, 420, 421, 422, 424, 428
 - patotipuri uropatogene 101, 186, 399
 - K₁ 177, 178, 187, 213, 380, 415, 416
 - K₁₂ 82
- Etambutol 135, 256, 259
- ETEC. Vezi *Escherichia coli* enterotoxigen
- Etuvă 124
- Eubacterium* 91, 92, 245, 250
- Eucariotă, celulă 5,6
- Eugonic 253
- Examen
- microbiologic. Vezi Diagnosticul infecției prin metode directe
 - serologic. Vezi Diagnosticul infecției prin metode indirecte specifice
- Excizie, mecanism de reparare a ADN 70, 71
- Exfoliativă. Vezi Toxina exfoliativă
- Exogenot, definiție 71
- Exotoxină
- A 208
 - S 208
- Exponențială, fază a creșterii bacteriene 50, 132, 134, 135
- Exsudat 107, 164, 170, 225, 228, 237, 243, 248, 254, 258, 263, 293, 319, 321, 360, 362, 363, 383, 385, 393, 395, 396, 408, 410
- faringian 167, 229, 303, 363, 364, 387-388, 391
 - genital 233
 - nasal 260, 388
 - nasofaringian 154, 217, 273, 388
 - pleural 170, 221, 386
- F**
- F, proteină 163
- F1, antigen 193
- F, plasmid (factor) 75-76
- Fab, fragment 103, 177
- Factor
- *col* 75
 - de elongare 2 (EF2) 98, 228
 - de necroză tumorală (TNFα) 97, 175, 208, 236, 273, 343, 346
 - F 73
 - R 73, 75
- Facultativ anaerob, definiție 44
- Facultativ intracelular 105, 109, 188, 190, 218-220, 225, 232, 252, 254
- Fag. Vezi *Bacteriophage*
- Fagocite 29, 30, 77, 84, 96, 103-105, 108, 155, 156, 173, 188, 217, 254, 374
- Fagocitoză 99-101, 157, 163, 177, 186, 193, 202, 213, 246, 250, 262, 283, 285
- Fagolizosom 29, 174, 175, 188, 225, 252, 254, 278, 283
- Fagosom 103, 191, 254, 278
- False membrane 228, 229, 388, 390, 391
- Faringită 164, 175, 178, 222, 228, 230, 288, 320, 364, 387-391
- Fasciită 164, 242
- Fastidioasă 40, 218, 259, 276, 363, 403
- Fază, variație de 174, 182, 188, 189, 213
- Fc, fragment 155
- Febra 97, 109, 141, 142, 149, 151, 155, 158, 164, 165, 169, 170, 178, 183, 184, 186, 191, 194, 199, 205, 213, 225, 232, 234, 243, 244, 255, 263, 269, 270, 276, 281, 284, 289, 291-293, 299, 300, 303, 304, 311, 315, 319, 320, 321, 324, 325, 327, 328, 366, 374, 392, 398, 416, 418, 419, 424-427,
- butonoasă 113, 279-281
 - de căpușă de Colorado 330, 332
 - de cinci zile 277
 - de Malta (ondulantă) 219
 - de Oroya 276, 277
 - de Pontiac 225,
 - de tranșee 277
 - de West Nile 330
 - de Wolhinia 277
 - Dengă 330
 - enterică 182, 189-191, 368, 374, 399, 419
 - faringo-conjunctivală 316
 - galbenă 113, 114, 330, 332, 333
 - Hantaan 331, 332
 - hemoragică(e) 330, 331,
 - - africană 331, 332
 - - cu sindrom renal 331
 - - de Crimeea – Congo 331-332
 - - sud americane 331, 332
 - papataci 330
 - paratifoiză 113, 189
 - pătată a Munților Stâncoși 278, 281, 284
 - pătată 279-281
 - poloneză 277
 - puerperală 7, 164, 430
 - Q 113, 283

- quintană 277
 - recurentă 108, **265-267**, 362
 - reumatismală 165, 365 Vezi și *Reumatism articular acut*
 - tibialgică 277
 - tifoidă. 98, 107, 109, 113, **189-190**, 367. Vezi și *Febra enterică*
 - Feed-back anticorpic 106
 - Fenoli, agenți antimicrobieni 116, 117, **126-128**
 - Fenotipică, variație 69
 - Fereastră imună 105, 106, 214
 - Fermentație 43, 44
 - Feromon 23, 74
 - Fibrile axiale Vezi *Axiale, filamente*
 - Fibrinogen 103, 142, 149, 156, 157, 366
 - Fibronectină 94, 163, 172, 262
 - Fibronectină, proteină de legare la 155
 - Fibroză chistică 207, 209, 211, 393-395
 - Fierbere, metodă de dezinfecție 122
 - Filogenie 15
 - Filtrare, metodă de decontaminare 126
 - Fimbrii 32, 96, 102, 162, 183, 184, 186, 207, 210, 213, 217, 246
 - Flagel 21, **30-31**, 42, 161, 181, 182, 197, 200, 201-204, 206, 207, 211, 216, 224, 225, 231, 232, 235, 238, 268
 - Flagelină 182
 - Flaviviridae* 54, 57, 64, 329-331, 339
 - Floră normală. Vezi *Microbiotă indigenă*
 - Flotantă, microbiotă 86
 - Fluctuațiilor, testul 12
 - Fluorochinolone 130, **138-139**, 141, 172, 176, 185, 187, 188, 191, 196, 203, 208, 211, 221, 227, 234, 248, 249, 251, 256, 259, 274, 275, 288, 289, 436
 - Foliculită 157
 - Fond microbial de spital 209, **431-433**
 - Forezie 84
 - Fosfolipază 97, 204, 208, 230, 232, 242
 - Fosfomicină 134, 149
 - Fototrof, organism 43
 - Francisella tularensis* 136, **221-223**
 - Frotiu, definiție 36
 - Fuchs-Rosenthal, cameră de numărare 380, 381
 - Fucidină 159
 - Fucsină 26, 29, 37
 - Fungemie, definiție 109
 - Fungi 4, 5, 35, 87, 89, 106, 108, 122, 126, 361, 362, 364, 378, 379, 381, 382, 394-396
 - Fungicid 120
 - Fungistatic 120
 - Furazolidon 140
 - Furuncul 108, 157, 158
 - antracoid 157
 - Fusidic, acid 138, 149, 158
 - Fusobacterium* 88. 91, 92, 245-248, **251**
 - Fusospirochetozică, boală 248
- G**
- Gammaglobuline. Vezi *Imunoglobuline*
 - Ganciclovir 151, 323, 325, 326
 - Gangrenă gazoasă 108, 118, 119, **242-243**
 - Gardnerella vaginalis* 88, 93, **215**, 407, 410
 - Gastrită 205
 - Gastroenterită 200-205, 236, 418, 419, 422, 424, 425
 - salmonelozică 189, **191-192**, 418
 - virală 296, 297, 309, 316
 - Gazdă-parazit, relație 84-85
 - Genital, tractus, infecții 406-413
 - Genom 52-54, 56-62, 64-66, 68, 69, 74, 76, 79
 - Genotipică, variație 69
 - Gentamicină **135-136**, 149, 193, 205, 208, 220, 223, 230, 231, 233, 277
 - Germenilor, teoria 3, 4
 - Germ free*, animale 93
 - Germinare 32, 110, 122
 - Giemsa, colorație 285-287, 361
 - Glican 23
 - Glicocalix 30
 - Glicopeptide 130, **134**, 138, 140, 149, 171, 172
 - Glomerulonefrită 99, 165, 166, 170, 336, 339
 - Glutaraldehidă, agent antimicrobian 126
 - G_{M1} 198
 - Goniă 263, 264
 - Gonococ 97, 107, **173-177**, 360, 389, Vezi și *Neisseria gonorrhoeae*
 - Gonococică, infecție 96, 110, 113, 136, 366, 391, 409-413
 - Gram, colorație 5, 26, **37**
 - Granulocit. Vezi *Sistemul granulocitar*
 - Granulocitopenie. Vezi *Neutropenie*
 - Granulom 29, 165, 218, 232, 247, 252-254, 258, 259, 263, 277
 - Granulomatoasă
 - boală 157, 264
 - leziune 163, 254, 415
 - Granulomatosis infantiseptica* 415
 - Gripă 61, 96, 99, 109, 111, 116, 118, 151, **299-301**, 393, 394, 437
 - Gripă de vară 292
 - Gripal, virus 55, 57, 62, 63, 79, 96, 99, 151, **298-301**, 389, 394, 395
 - Guanină+Citozină, procent 18
 - Guillain-Barré, sindrom 202, 304
- H**
- H, antigen 182, 183, 185, 188, 189, 198, 207
 - Haemophilus* 73, 88, 89, 92, 133, **212-215**, 390
 - *aegyptius* **213**
 - *aphrophilus* 91, 215
 - *ducreyi* **214-215**, 406
 - *influenzae* 40, 90, 93, 99, 105, 117, 125, 130, **212-214**, 360, 373, 376, 379, 380, 387, 392, 394
 - *parainfluenzae* 91, 93, **215**
 - Hafnia* 421
 - Halofil, microorganism 47, 197, 198, 200
 - Halogeni, agenți antimicrobieni 127
 - Hantaan, virus 153, 331, 332
 - Haptenă 236, 262
 - HBc, antigen 335, 337, 338
 - HBe, antigen 335, 337, 338
 - HBs, antigen 335-338
 - HeLa, celule 290, 316
 - Helicală, simetrie 53, 60, 64, 65, 298, 308, 310, 329
 - Helicobacter pylori* 92, 137, 139, **203-205**
 - Hemadsorbție virală 55, 63, 303-305, 369
 - Hemaglutinare 220, 222, 229, 270, 280, 309, 337, 369
 - Hemaglutinină 99, 151, 298, 299, 300, 308, 315
 - filamentoasă 99, 216, 217
 - Hemato-encefalică, barieră 378
 - Hemină 213
 - Hemocultură 108, 146, 158, 165, 170, 176, 178, 190, 194, 210, 214, 215, 218, 219, 221, 232, 234, 237, 258, 277, 283, 361, 363, **372-377**, 398, 399, 411, 413, 416,
 - Hemoliză 42, 154, 170, 187, 207, 208, 213, 237, 238, 241-243, 250, 251, 276, 369, 375
 - α 90, 161, 164, 168, 169, 171, 172, 233, 373, 387
 - β 93, 138, 161, 162, 164, 172, 181, 208, 228, 230, 237, 240, 250, 251, 305, 373, 386, 388, 390, 391
 - Hemolizina 96, 99, 155, 161, 168, 186, 207, 217, 232, 241, 242, 246, 250, 399
 - Hep-2, celule 184, 186, 316
 - Hepadnaviridae* 65, 335
 - Hepatită virală 113, 118, **333-339**, 433
 - Hepatitic, virus
 - virus A 333, **334**, 336
 - virus B 61, 117, 122, 151, 152, 333, **335-337**, 346, 352, 359, 429, 436
 - virus C 151, 333, **339**, 351, 359, 429, 436
 - virus D 333, **338**, 359, 429
 - virus E 333, **334-335**
 - virus G 333
 - Herpangină 291
 - Herpes simplex 62, 96, 152, 214, **318-321**, 348, 351, 352, 365, 366, 380, 382, 406, 407, 412, 414, 415
 - Herpes zoster 109, 152, , **321-322**, 344
 - Herpesvirus 54, 58, 60, 62, 65, 104, 109, **318-326**, 348, 351, 437
 - tip 6 342
 - tip 7 326, 342

- tip 8 326, 342, 348, 352
- Herxheimer, reacție 264, 266
- Heterotrof 40
- Hexonă 53, 315
- Hfr, clone 75, 76
- Hialuronic, acid 162, 163, 164
- Hialuronidază 96, 155, 156, 163, 164, 166, 168, 170, 234, 242, 249, 250, 262
- Hidrazida acidului izonicotinic. Vezi *Izoniazidă*
- Hidrogen peroxid 127
- Hidrogen sulfat 42, 182, 183, 187, 188, 196, 228
- Hidrosadenită 157
- HIN. Vezi *Izoniazidă*
- Hipersensibilitate. Vezi *Sensibilizare*
- Histamină 104, 217
- Histoplasma capsulatum* 395, 396, 412
- HIV. Vezi *Imunodeficienței umane, virus*
- HLA, complex 348
- receptivitatea la boli 187
- Holeră 10, 107, 111, 113, 114, 117, 197, 198-199, 418, 420, 422
- Holeriform, sindrom 200, 419
- HTLV 342, 348, 416

I

- Iatrogen 94, 164, 354, 355, 379, 380, 430
- Icosaedrică, simetrie 53, 60, 64, 65, 290, 296, 313, 315, 318, 329, 333, 335, 340, 341, 351
- Identificare, microorganisme 19, 357, 361, 364, 365
- Idoxuridină 152
- IFN. Vezi *Interferon*
- Ig. Vezi *Imunoglobuline*
- IL. Vezi *Interleukine*
- Imipenem 134, 145, 203, 208, 209, 210, 237, 249
- Immuno-blotting, tehnică 370, 371
- Impetigo
 - bulos 157
 - stafilococic 157, 158
 - streptococic 164
- Imunitate 85, 103, 106, 109, 114, 116
 - artificială 103
 - celulară 105, 116, 118
 - de infecție 109
 - mecanisme microbiene de eludare 96
 - naturală 103
 - particularități la nou-născut 105-106
 - umorală 11, 118, 177
- Imunizare artificială
 - activă 116, 159
 - pasivă 118
- Imunodeficiență umană, virus (HIV) 62, 86, 151-153, 256, 264, 275, 288, 341-346, 348, 371, 407, 411, 413, 415, 416, 430, 433, 436
- Imunodifuzie, test 366, 368

- Imunoelectroforeză 368
 - contracurent. Vezi *Contraimmunoelectroforeză*
- Imunofluorescență 63, 193, 217, 219, 221, 222, 225, 237, 273, 277, 280, 286-289, 296, 300, 303, 305, 309, 312, 316, 320-323, 325, 328, 332, 334, 345, 364, 370, 382, 396, 397, 408, 409, 419
- Imunoglobuline 93, 103, 105, 119, 208, 312, 339, 366, 369-371
 - IgA 103, 105, 117, 170, 174, 175, 177, 187, 190, 199, 202, 217, 219, 273, 283, 287, 293, 296, 300, 303, 309, 323
 - - IgA₁-protează 170, 174, 177,
 - IgE 104
 - IgG 104, 105, 155, 175, 177, 191, 202, 219, 263, 268, 280, 287, 289, 303, 306, 307, 311, 314, 323, 334, 335, 338, 367,
 - IgM 103-106, 177, 187, 202, 219, 263, 264, 266, 268, 274, 280, 287, 289, 303, 305-307, 314, 323, 332, 334, 335, 338, 367
 - umane hiperimune 118, 322
 - umane standard 118, 334
- Incluziuni
 - *Chlamydia* 285-288
 - *Ehrlichia* 278
 - în citoplasma bacteriană 21, 22, 216
 - virale 55, 56, 60, 63, 296, 302, 305, 310, 321-323, 327
- Incubare 46-47, 51
- Incubație, perioadă 109
- Indol 42, 182, 183, 188
- Inducție, fagică 66
- Infecție 106
 - endogenă 106
 - exogenă 106
 - inaparentă 106
 - încrucișată 111
 - latentă 109
 - modele patogenetice 108, 109
 - nosocomială 429
 - profilaxie 112-119
 - transmitere 107, 108
- Infestare 106
- Inflamație 103
- Inhibare
 - a hemaglutinării, reacție 293, 300, 305, 306, 316, 332, 370
- Inoculum 48
- Inserție, secvență 73
- Integrază 341, 342
- Interferență virală 55, 79, 80
- Interferon (IFN) 102-103, 151, 299, 303, 320-322, 324, 336-339
- Interleukină (IL)
 - IL-1 97, 273, 343
 - IL-6 97, 343,
 - IL-8 97, 204, 273
- Intimină 184
- Intracelular

- facultativ 105, 109, 188, 190, 218-220, 222, 225, 232, 252, 362
- obligat 105, 109, 262, 278
- Intradermoreacție 119, 219, 221, 222, 256, 257, 366, 367
- Intraspitalicească, infecție Vezi *Infecție nosocomială*
- Invazine 104, 188, 193,
- Iodofori 126, 127
- Iod, agent antimicrobian 127
- Ionizante, radiații 125
- ITU. Vezi *Urinar, tractus, infecție*
- Izbucnire epidemică 111
- Izolare microorganisme 358, 363-365
- Izoniazidă 134, 135, 256
- Izoxazolilpeniciline 159

Î

Însămânțare 48

J

Junin, virus 331

K

- K, antigen 182, 183, 187
- Kanamycină 135, 248, 256
- Kaposi, sarcom 318, 326, 344, 348, 352
- Keratoconjunctivă 316, 320
- test Sereny 185, 422
- Ketolide 137
- Klebsiella* 69, 92, 107, 133, 181, 182, 195, 373, 384, 394, 395, 399, 416, 417, 435
- *pneumoniae* 140, 149, 195, 389, 412, 421
- Koch, bacil 18, 252, 253
- Koch, postulate 4
- Koch, postulate moleculare 95
- Koplik, semn 304, 305

L

- L, forme bacteriene 25, 47
- Lactobacillus* 26, 88, 91, 92, 134, 245, 250
- Lactoferină. Vezi *Chelatori de fier ai gazdei*
- Lambda, fag 27, 66
- Lancefield Rebecca 161
- clasificare 161, 169
- Langhans, celulă 253, 254
- Laringită 387, 389, 392
- Lassa, virus 153, 332
- Latență, fază a creșterii bacteriene 50, 51
- Latexaglutinare 156, 162, 166, 171, 178, 185, 280, 323, 345, 363, 364, 366, 369, 382, 390, 419, 422
- L.C.R. în diagnosticul meningitelor 378-382
- Lecitinază 237, 242, 243
- Lectine 246

- Legionella* 96, 107, **224-226**, 394, 396, 397, 435
- *pneumophila* 136, 139, **224-225**, 394
- Lentivirinae* 340, 341
- Lepră 109, 113, **258-260**
- Lepromin 258, 260
- Leptospira* 31, 107, 113, 261, **268-271**, 364, 373, 379-382, 404
- Leptospiroză 107, 113, 374, 377, 399
- Leucocidine 96, 155, 158
- Leucocit
- limfocit. Vezi *Limfocit*
 - monocit. Vezi *Monocit*
 - polimorfonuclear. Vezi *Polimorfonuclear*
- Leucocitoză 366
- Leucogramă 358, 365, 399
- Leucemie aviară, virusuri 349, 350
- Levră 1, 3, 7, 8, 41, 87, 91-95, 97, 103, 117, 361, 373, 394, 396, 403, 404, 409, 436
- Lichid cefalorahidian. Vezi *LCR*
- Limfocit 208, 254, 263, 279, 284, 293, 304, 325, 331, 336, 342, 345, 362, 378, 385
- B 57, 62, 97, 246, 273, 324, 325, 343, 344, 352
 - T 343
 - - CD4 151, 342, 345
 - - CD8 343
 - - T citotoxice 99, 105, 217, 300, 325
 - - reglatoare
 - - ajutătoare (Th) 342
 - - supresoare (Ts) 217
- Limfogranulomatoză veneriană 214, **287-288**
- Limfokine 105, 325
- Limulus, test 382
- Lincomicină **137**, 159, 391
- Lincosamide 137, 172, 249
- Linezolid 137
- Liofilizare 125
- Lipază 39, 87, 155-157, 240, 242, 246
- Lipid A 27, 28, 97
- Lipoarabinomanan 29
- Lipooligozaharid 174, 175, 177
- Lipopolizaharid 26-28
- Lipoteichoic, acid 26
- Listeria* 133, **231-233**
- *monocytogenes* 99, 107, 122, 187, **231-232**, 373, 394, 404, 415, 416
- Listerioză 232, 233, 380, 404, 416
- Lizogenică, conversie 73, 76, 77, 156, 164, 239
- Lizogenă, bacterie 66-68, 77, 207
- Lizosomi 23, 29, 57, 103, 225, 278
- Lizotip 19, 67, 159, 424
- Lizotipare 67, 158, 191, 392
- Lizovar. Vezi *Lizotip*
- Lizozim 25, 26, 100, 102, 154
- LOS. Vezi *Lipooligozaharid*
- LPS. Vezi *Lipopolizaharid*
- Lyme, boală. Vezi *Boală Lyme*
- Lyssavirus* 310
- M**
- M, celulă 96
- M, proteină 104, 162-168, 170
- MAP 162
- Machupo, virus 331
- Macrofag 21, 29, 62, 96, 97, 100, 101, 104, 105, 171, 190, 193, 217, 232, 241, 246, 253-255, 258, 262, 279, 291, 342, 343, 362, 385, 420
- Macrolide 136-138, 141, 148, 159, 171, 221, 226, 233, 234, 249-251, 259, 274, 288, 289, 390
- Malassezia furfur* 87, 88, 94
- Malformație congenitală 263, 306-308, 322, 415
- Mancini, tehnică 366
- Marburg, virus 331
- Marcheri epidemiologici 19
- Mastocit 104
- Mărire
- goală 34
 - utilă 34
- Mediu de cultură
- pentru bacterii 41-42
 - - de identificare 42
 - - de îmbogățire 41
 - - diferențial 42
 - - empiric 41
 - - selectiv 41
 - - sintetic 41
 - pentru celule 54, 55
- Membrană
- citoplasmică 22-23
 - externă 26-27
- Meningită 105, 113, 131, 141, 149, 165, 168, 170, 172, 175, 177, 178, 183, 187, 195, 196, 201, 209, 211, 213, 214, 219-221, 231, 232, 234, 236, 237, 247, 262, 267, 269, 270, 274, 277, 292, 294, 321, 326, 344, 365, 366, 369, 373, **378-382**, 415, 416
- Meningococcemie 177, 179
- Meningococ 18, 105-107, 114, 173, **177-179**, 360, 374, 376, 379, 386, 389, 416. Vezi și *Neisseria meningitidis*
- Metacromatice, granulații 22, 227, 390, 391
- Metale grele, efect antimicrobian 127
- Meticilină 132, 159, 160, 431,
- Meticilino-rezistenți, stafilococi 134, 137, 139, 417, 434. Vezi și *Staphylococcus aureus metilino-rezistent*
- Metronidazol 139, 205, 216, 241, 243-245, 249, 251
- Mezofil, organism 46
- Mezosom 23
- Micobacterii 28, 29, 89, 120, 126, 140, 364, 394, 396
- atipice **258-259**, 435, 436. Vezi și *Micobacterii condiționat patogene*
 - condiționat patogene 89
 - saprofite 89, 93
- Micobacterioze 393
- Micolici, acizi 134, 253
- Micoplasme 47, 93, 126, 136, 140, 275, 394, 407, 416
- Micoză 109, 393, 436
- Microaerofil, organism 44, 47
- Microb
- accidental patogen 85
 - condiționat patogen 85
 - nepatogen 85
 - patogen 85
- Microbiologic, diagnostic. Vezi *Diagnosticul infecției prin metode directe*
- Microbiocenoză 86, 90
- Microbiologie, definiție 1
- discipline microbiologice 7
- Microbiotă
- indigenă 86-94
 - flotantă 86
 - rezidentă 86
- Microorganisme
- creștere 48-51
 - identificare 19
 - taxonomie 15, 18, 19
- Microscop optic, descriere 32-35
- Microsporum* 88, 89
- Minociclină 136, 221
- Miringită 326
- Mobiluncus* 88, 93, 215, 250, 407
- Mollicutes* 18, 21-23, 272
- Moluscum contagiosum* 328
- Monobactam 134
- Monocit 344
- Mononucleoză 322, 324-325, 387
- Mononucleozic, sindrom 344
- Moraxella catarrhalis* 90, 133, 136, 148, **180**, 389, 394
- Morbillivirus. Vezi *Rubeolic, virus*
- MRSA. Vezi *Staphylococcus aureus metilino-rezistent*
- Mucegaiuri 436
- Mucinază 198, 204
- Mucoasă, barieră antimicrobiană 100-102
- Mucociliar, transport 7, 94, 99, 101, 102, 170, 213, 294, 299, 395
- Mupirocin 138, 158
- Mureină. Vezi *Peptidoglican*
- Mutagen, agent 69, 79
- Mutație 69-71
- cu schimbare de proiect 71
 - cu sens greșit 71
 - non sens 71
 - polară 71
 - punctiformă 71
 - reversă 70
 - spontană 69, 70
- Mutualism 84
- Mycobacterium* 18, 92, 134, 136, 252-260, 394,
- *avium-intracellulare* 139, **258, 259**, 344, 380,

- *bovis* 122, **257**,
- *gastri* 255, 259
- *kansasi* 139, 259
- *leprae* 40, 137, 139, 252-254, 257, **258-260**, 415
- *marinum* 259
- *phley* 255, 259
- *scrofulaceum* 259
- *smegmatis* 255, 259
- *tuberculosis* 125, 126, 139, 252, **253-257**, 344, 380, 384, 389, 394, 407, 412, 436
- *ulcerans* 259
- Mycoplasma* 71, 88, 130, 134, 137-139, **272-275**
 - *genitalium* 93, **274-275**
 - *hominis* 93, 137, **274-275**, 416
 - *pneumoniae* **272-274**, 387-389, 393-395, 397

N

- N-acetil glucozamină 23
- Nageotte, cameră de numărare 380
- Nalidixic, acid 138, 149, 205
- Nas, microbiotă 90
- Nasofaringe, microbiotă 88-90
- Nasofaringian, carcinom 324, 348, 352
- Necroză de cazeificare 254
- Negi. *Vezi Veruci*
- Neisseria* 125, 133, 148, **173**, 177, 380, 389
 - *gonorrhoeae* 125, 133, 148, **173-177**, 406-413, 415
 - *meningitidis* 18, 90, 93, 125, 130, 136, 173, **177-179**, 187, 373, 380, 394, 412
- Neisserii nepretențioase 173, 180, 404
- Neomicină **135**, 401, 422
- Neoplazie 347, 348, 352
- Neuraminidază 91, 96, 164, 170, 198, 234, 242, 246, 250, 298, 300, 302
- Neutralizanți, anticorpi 166, 290, 293, 303, 309-311, 316, 323, 327, 332, 339
- Neutralizare, reacție 63, 104, 240, 243, 293, 296, 303, 305, 312, 315, 316, 320, 367, **369-370**
- Neutrofilie 366
- Neutropenie 142, 152, 345, 393, 394, 436
- Nistatină 176
- Nitrocef, test 148
- Nitrofurani 140, 200, 404
- Nitrofurantoin 140, 172, 187, 196
- Nivel de eficiență bactericidă a umorilor (NEB) 149-150
- Nocardia* 29, 384, 394
- Norwalk, virus 297
- Nosocomială
 - colonizare 433
 - infecție 143, 172, 186, 192, 195, 196, 209, 211, 244, 429-437
- Nucleocapsidă, definiție 52
- Nucleoplasmă 22
- Nutrienți 39-41

Nutriție bacteriană 39-42

O

- O, antigen 28, 29, 182, 183, 185, 187-190, 196, 202, 207, 367
 - O1 198, 199, 422
 - O139 198, 199
 - O157H7 184-187
- Obiectiv 32, 34
 - capacitate definitorie 34
 - cu imersie 34
 - distanță de lucru a obiectivului 34
- Obligat intracelular, microorganism 105, 109, 254, 262, 278
- Ofloxacin 138, 191
- OmpA 26, 27
- Oncogeneză
 - virală 347-352
- Oncornavirinae* 61, 340, **348-350**
- Opa, proteine 174, 175
- Operon 66, 71, 74, 75, 99
- Ophthalmia neonatorum* 175, 415
- Oportunism, relație 84-85
- Opsonine 104, 105, 246
- Opsonizanți, anticorpi 110, 166, 170, 213, 220, 225
- Opsonizare 104, 157, 246
- Optochin, test de sensibilitate 171
- Orbivirus 296, 329
- Orf, virus 328
- Orofaringe, microbiotă 88-91
- Ornitoză 289
- Orthomyxovirus 54, 55, 57, 64, 80, **298-301**
- Orthopoxvirus 66, 327, 328
- Otită
 - externă 207
 - medie 157, 164, 170, 178, 180, 213, 214, 220, 229, 231, 247, 273, 288, 305, 387-389
- Oxacilină 132, 143, 146, 147, 159, 171
- Oxazolidinone 137
- Oxid de etilen 128
- Oxidază 173, 176, 180, 181, 197, 200, 201, 203, 206, 208, 209, 218, 220, 227, 231, 233, 235, 376, 391, 422
- Oxigen, necesități 43-45, 47

P

- P, fimbrie 102, 186, 399
- P₁, proteină 192, 273
- Pandemie, definiție 111
- Panencefalită sclerozantă subacută 304
- Papiloma virus 60, 61, 151, 348, **351-352**, 416
- Papovavirus 65, 348, **351**
- Paragripal, virus **302-303**, 389, 395
- Paramyxovirus 55, 57, 65, **302**
- Parapoxvirus 327, 328
- Parazitism, relație 84
- Parotidită epidemică 303
- Parvovirus 52-54, 59, 60, 65, 313-314
- Pasteurelină 221

- Pasteurella multocida* 220-221
- Pasteurizare 3, 4, 115, 122, 168, 218, 220, 232, 257
- Patogen, definiție 85
- Patogenitatea microorganismelor 95-100
- PCR. *Vezi Amplificare genică*
- Pefloxacin 138
- Pelioză bacilară 277
- Pelvină, boală inflamatorie 175, 346, 406, 407, 410
- Peniciline 23, 25, 26, 130-133, 136, 139, 146, 148, 149, 159, 165, 167, 169, 171, 176, 180, 187, 208, 221, 230, 233, 237, 243, 249, 261, 264, 265, 271, 273, 374, 390, 430, 431
 - benzatinpenicilină 132, 167, 230, 264
 - benzilpenicilină (G) 132, 167-168, 179, 201, 234, 241, 251, 264
 - fenoximetilpenicilină (V) 132, 167
 - M 132, 159
 - proteine de legare a penicilinelor 23, 132, 179, 180, 214
- Penicilinază 132, 133, 136, 141, 374, 413. *Vezi și β -lactamaze*
- Pentonă 53, 290, 315
- Peptidoglican 23, 25-27, 31, 32
- Peptococcus* 245, 249
- Peptostreptococcus* 87, 88, 90, 92, 93, 245-249
- Perete bacterian 23-29
- Periplasmic, spațiu 28
- Permează 39
- Permisivitate celulară 60, 61
- Peroxid de hidrogen 127, 161
- Peroxidază 40, 44, 370
- Pertussis, toxină **217**, 218
- Pesta 2, 107, 113, 114, 192, **193-194**
- Peyer, plăci 109, 190
- pH, efecte asupra microbilor 120
- Pian 264, 265
- Picornaviridae* 53, 54, 57, 60, 64, **290-295**
- Pielonefrită 398
- Picături Flügge 107, 114, 159, 167, 179, 214, 218, 230, 254, 257, 300, 305, 309, 322, 346
- Pili comuni 31, 32. *Vezi și Fimbrii*
- Pili sexuali 27, 31, 32
- Pilină 174, 175
- Pinocitoză 6, 97
- Pinta 264, 265
- Piocianine 206-208
- Piocianic, bacil 206-209, 380, 385, 394, 435. *Vezi și Pseudomonas aeruginosa*
- Piodermite streptococice 164
- Pionier, specie 86
- Piperacilină 133, 208, 211
- Pirazinamidă 135, 256, 257
- Pirogen endogen 155. *Vezi și Interleukină I*
- Pirogenă, toxină 156. *Vezi și TSST-I*
- Piurie 401, 403, 404

- Placă dentară 90, 91, 94, 215, 249, 251
 Plagă, infecție 99, 110, 118, 119, 158-161, 164, 172, 183, 195, 196, 207-210, 221, 229, 236, 237, 239-243, 247, 248, 359, 373, 377, **383-386**, 430, 435, 436
 Plaje, metodă 54, 55, 67
 Plasmid 31, 32, 68, 69, 71, 73, 74, 76, 82, 95, 97, 156, 183, 184, 187, 192, 193, 236, 241, 431, 435
 Plasmină 163
 Pleurodinie. Vezi *Boala din Bornholm*
 PLP. Vezi *Proteine de legare a penicilinei*
 PMN. Vezi *Polimorfonuclear, leucocit*
 Pneumococ 110, **169-171**, 373, 376, 379, 380, 384, 385, 392, 394. Vezi și *Streptococcus pneumoniae*
Pneumocystis carinii 344, 394-396
 Pneumolizina 170
 Pneumonie 99, 105, 157, 158, 165, 170, 178-180, 183, 193, 196, 213-215, 217, 221, 225, 236, 237, 299, 300, 303-305, 315, 319, 322-324, 332, 344, 363, 365, 366, 393, 394, 415
 - atipică primară 273
 - cu alveolită (lobară acută) 141, 393, 395
 - de aspirație 149, 248, 394
 - interstițială 217, 279, 283, 287, 288, 299, 308, 321, 323, 343, 393
Pneumovirus 302, **305**
 Polimixine 135, 149, 196, 233, 237
 - B 135, 401
 - E 135, 248
 Polimorfonuclear, leucocit 155, 171, 178, 186, 193, 241, 246, 254, 261, 279, 284, 381-383, 360, 362, 397, 409, 413, 420, 428
 Poliomieliță **291-294**, 378, 379
 Poliomieltic, virus **291-294**, 379
 Polizaharid C streptococic 161, 162, 163, 165, 166, 169
 Polizaharid capsular C pneumococic 169-171
 Porine 26, 27, 29, 174
 Portaj de agent infecțios 107, 111
 Poststreptococică, boală 119, 165-167, 387
 pOX₁, plasmid 236
 pOX₂, plasmid 236
 Poxvirus 53-55, 57, 59, 60, 66, **327-328**
 PPD, i.d.r. 256
 Precipitare, reacție 162, 166, **367-368**
 Predicție negativă 357, 358
 Predicție pozitivă 357, 358
 Prelevat patologic
 - alegere 358
 - control microscopic al calității 361-363
 - reguli de prelevare 358-359
 - tehnici de prelevare 358-360
 - transport și conservare 360
 Presiune osmotică, efect asupra bacteriilor 125
Prevotella 88, 91-93, 245-249, **251**, 395, 407
 Prezervant 128
 Prezervare 115, 120, 125
 Prioni 7, **353-355**, 432, 437
 Pristinamicină 137, 159
 Procariot 5, 6, 15, 18, 21, 23, 30
 Profag 12, 66-68, 69, 71, 73, 77, 97, 99, 157, 183, 228, 239
 Profilaxie antiinfecțioasă 112-119
Propionibacterium 87, 89, 91, 93, 245, 250
 PROS, treponeme 261
 Prostaglandine 97, 103, 191
 Prostatită 175, **411-413**
 Proteină
 - A stafilococică 155, 369
 - B (factor CAMP) 168
 - C reactivă 103, 169, 283, **365-366**
 - M streptococică 104, **162**, 163, 166, 170
 - MAP 162
 - Por 174, 175
 - R 162
 - T streptococică 162
 - de legare a fibronectinei 155
 - de legare a penicilinelor (PLP) 23, 130, 132, 179, 180, 214
 Proteine
 - de membrană externă 26, 27, 96, 188, 213, 225, 262, 266, 285
 - de transport 26, 27
Proteus 89, 92, 121, 133, 135, 140, 181, 182, **196**, 373, 384, 389, 395, 399, 403, 416, 417, 421
 - *mirabilis* 133, 181, 412
 - *vulgaris* 181
 Protoplast 21, 23, 25-27, 31, 32
 Prototrof 40
 Protozoar 35, 92
Providencia 121, 181, **196**, 384, 421
 Provirus 58, 340
Pseudomonas 18, 22, 69, 89, 91, 92, 107, 133, 134, 138, 148, **206-209**, 217, 395, 412, 421, 432, 435
 - *aeruginosa* 27, 43, 89, 92, 117, 133, **206-209**, 373, 376, 384, 389, 399, 412, 417
 Psihrofil, organism 46
 Psihrotrof, organism 46
 Psitacoză 289
 Pupinel. Vezi *Etuvă*
 Puroi 3, 125, 154, 157, 158, 170, 206, 210, 221, 225, 248, 250, 255, 277, 359, 362, **383-386**, 388, 392, 408, 410, 413
 Purtător asimptomatic de microbi patogeni 106, 107, 109-111, 113-115, 138, 158, 159, 162, 167, 169-171, 174, 177, 179, 188-191, 199, 203, 211, 214, 229, 230, 316, 336, 337, 360, 391, 392, 405, 420, 421, 428
 Putere de mărire 34
 Putere de rezoluție 34
Q
 Q, scor de calitate al prelevatelor patologice 362, 396
 Quinupristină **137**, 172
R
 R, antigen 28, 207
 R, formă de cultură 28, 49, 169, 218, 233, 237
 RAA. Vezi *Reumatism articular acut*
 Rabic, virus 56, **310-312**
 Rabie 311-312
 Radiații, acțiune antimicrobiană 117, **125**
 Răspuns imun 103-105
 Reactivi de fază acută 103
 Reacție
 - de fixare a complementului 273, 274, 280, 285, 289, 293, 296, 298, 300, 304, 305, 309, 315, 316, 328, **369**
 Reacție antigen-anticorp 367-372
 Recombinare genetică 12, 69, **72-73**, 79
 Relație
 - bacterie – antibiotic 130-131
 - microorganism – gazdă 84-111
Reoviridae 54, 57, 64, 66, **296-297**
 Repelent 23, 31
 Replicare, situs 68
 Replicarea
 - bacteriofagilor 66
 - virusurilor animale 52, **56-60**
 Replicon 72, 73, 76, 82
 Represie 69
 Represor 71, 73
 Respirație bacteriană 40, **43-44**
 Respirator sincițial, virus 302, **305**, 395
 Respirator, tractus
 - apărare antimicrobiană 100-101
 - microbiotă 90
 - inferior, infecții 157, 168, 170, 171, 178, 180, 193-196, 207, 208, 210, 213, 217, 221, 222, 225, 229-231, 236, 237, 254, 255, 257, 258, 273, 283, 288, 289, 291, 292, 299-302, 304, 305, 308, 315, **393-397**, 435, 436
 - superior, infecții 164, 170, 171, 178, 213, 215, 222, 231, 247, 270, 273, 288, 294, 302, 303, 305, 308, 313, 315, 320, 324, **387-392**
 Restricție, endonucleaze 72, 80-82
 Reticulat, corp 285, 286
 Reticuloendotelial, sistem 103, 109, 190, 218, 276, 304, 327, 331, 349
 Retrovirus 58, 61, 62, **340-346**
 Reumatism articular acut 162, **165-167**, 365, 387
 Revers-transcriptază 57, 65, 152, 153, 335, 336, 340, 342
 Reye, sindrom 299, 300

- Rezervor de infecție 106-107
- Rezistență la antibiotice 69-70, 73, 74, 77-79, 82, 94, 95, 110, 119, 129, 131, 134, **137-141**, 143, 145, 146, 148-152, 159, 160, 169, 171, 172, 176, 179, 180, 192-196, 201, 203, 207-210, 214, 249-251, 256, 257, 259, 260, 272, 275, 431-436
- Rhabdoviridae* 54, 57, **310-312**
- Rhinovirus* 290, **294-295**, 389
- Ribavirin 153, 303, 332, 339
- Ribosom 21, 22
- Rickettsia* 6, 109, 130, 134, 136, **278-283**, 366
- *proteus* 18, 278-283
 - vectori 97, 108, 279, **281**
- Rickettsioză 108, **278-282**
- Rifabutin 256, 259
- Rifampicină 70, 138-141, 149, 171, 179, 180, 214, 220, 249, 256, 259, 260, 283
- Rimantadină 151, 300, 301
- Rinită 387, 389
- Rotavirus 63, **296-297**, 371, 419
- Rubeolă **306-307**
- Rubeolic
- sindrom congenital 61, **307**
 - virus 55, **306**
- Rujeolă 61, 99, 104, 118, 302, **304-305**
- Rujeolic, virus 62, 106, 302, **304-305**
- S**
- S, formă de cultură 28, 49, 73, 77, 154, 169, 174, 181, 209, 216, 233, 251
- S, strat 29, 96
- S→R, variație 70, 73, 77, 97, 181, 218, 233, 283
- Salicilic, acid 128
- Salmonella* 77, 89, 107, 113, 133, 181, 182, **188-192**, 194, 373, 416, 419-421, 425, 428, 435,
- nontifice 188, 191, 192, 419
 - - Typhimurium 189, 192
 - - Typhi 98, 107, 109, 113, 128, **188-191**, 367, 405, 419, 420
 - - Paratyphi A, B, C **188-189**, 419
- Salmoneloză 194, 418, 420
- Salpingită 175, 246, 274, 287, 288, 407
- SAMR. Vezi *Staphylococcus aureus* meticilino-rezistent
- Sarcom Rous, virus 55, 61, 347, 349, 350
- SARS 309
- Scarlatină 109, 113, 142, 164, **165-166**, 168
- Schick, i.d.r. 367
- Secvență de inserție 73
- Selecție
- absolută 77
 - relativă 77
- Sensibilitate 357
- Specificitate 358
- Sensibilizare, reacții 155, 165, 167, 221, 270, 273, 304, 330, 336, 367
- clasificare 99
 - - de tip I 165, 253
 - - de tip II 165, 336
 - - de tip III 165, 166, 170, 336, 339
 - - de tip IV 157, 165, 190, 219, 222, 255, 256, 258, 262, 285, 367
- Sepsis 366
- Septicemie 131, 146, 149, 157-159, 164, 168, 172, 175, 177, 178, 180, 183, 186, 189, 192, 194-196, 200-203, 209, 211, 221, 232, 234, 236, 237, 265, 274, 365, 366, 372, 373, 384, 398, 399, 415
- definiție 109
 - spectru etiologic 373
- Ser hiperimun 118, 241
- Sereny, test 185, 422
- Seroconversie 367
- Serogrup 28
- Serologic, diagnostic 366-367
- Seroneutralizare, test 240
- Seropofilaxie 118
- Seroterapie 11, 118
- Serotip 73. Vezi și *Serovar*
- Serotipare 26
- Serovar 19, 96
- Seroprotecție, test 240, 370
- Serratia* 133, 135, 181, 182, **195-196**, 417, 421, 435
- Sferoplast 25
- Shiga*, toxină 183, 187
- Shigella* 89, 133, 181-185, **187-188**, 201, 203, 419-421, 425, 428
- Shigeloză 194, 418, 420
- SIDA 113, 116, 177, 218, 233, 258, 259, 263, 264, 275, 277, 316, 320, 326, 341-346, 352, 377, 380, 415, 431, 436
- Siderofori 210
- Siderofilină. Vezi *Chelatori de fier ai gazdei*
- Sifilis 14, 97, 106, 107, 109, 113, **261-265**, 268, 406
- congenital 263, 367, 415
 - latent 262, 366
 - primar 262, 263, 370
 - secundar 262
 - terțiar 263, 366
- Simbioză, relație 84
- Sindrom
- ansă oarbă 94
 - hemolitic uremic 184, 186, 187, 419
 - de imunodeficiență dobândită. Vezi *SIDA*
 - pielii opărite 157
 - Reiter 187, 191, 287
 - Reye 299, 300
 - șocului toxic stafilococic 156, 158, 410,
- Sânge, prelevare pentru
- examen serologic 367
 - hemocultură 373-375
- SLO Vezi *Streptolizina O*
- SLS Vezi *Streptolizina S*
- SOS, răspuns 70
- Sparfloxacină 139
- Spălătură
- bronșică 255, 396
 - gastrică 255
- Specie
- definiție 15
 - pionier 86
- Spectinomycină 135-136
- Spirili 201-205
- Spirillum minus* 384
- Spirochete 23, 28, 31, 35, 36, 96, 126, 132, 136, **261-271**, 391
- Spor
- bacterian. Vezi *Endospor*
 - fungic 125
- Sporadică, infecție 110
- Sporulare 235
- Spută
- examen citobacteriologic 396
 - prelevare 395, 396
- Stafilococ 87, 90, 133, 141, **154-160**, 369, 384, 389, 391, 404, 421, 429, 431, 433
- coagulazo-negativ 87, 89, 90, 93, 154, **159-160**, 373, 375-377, 380, 397, 417, 431, 434, 435
- Stafilococia malignă a feței 158
- Stafilokinază 155, 156
- Staphylococcus* 18, 19, 87, **154-160**
- *aureus* 18, 40, 87, 89, 93, 99, 107, 110, 111, 137, **154-159**, 164, 373, 376, 380, 383, 384, 388, 389, 392, 394, 410, 416, 417, 419, 424, 430, 433, 434, 437
 - - meticilino-rezistent 134, 137
 - *epidermidis*, grup 18, 87, **160**, 384, 386, 417
 - *saprophyticus*, grup **160**, 399
- Staționară, fază a creșterii bacteriene 50, 51
- Sterilizare, definiție 120
- chimică 128
 - fracționată 122
 - prin căldură umedă 121-124
 - prin căldură uscată 124
 - prin filtrare 126
 - prin radiații 125
- Stomatită veziculară cu exantem. Vezi *Boala gură-mână-picior*
- Streptobacillus moniliformis* 384
- Streptococi 18, 26, 42, 89, 91, 94, 104, **161-172**, 376, 388, 390, 392, 416
- α hemolitici 90, 161, 171, 373, 389
 - β hemolitici 93, 138, 161, 166, 373, 386, 388, 390
 - grup A 157, **162-167**, 369, 387, 390, 426
 - grup B 107, **168-169**, 389, 394, 415, 416
 - grup C 89, **167-168**, 387, 389, 390
 - grup D **168**, 394
 - grup F 89
 - grup G 89, **167-168**, 389, 390, 394, 426
 - piogeni 108, 110, 162, 384

- orali 87, 89 - 91, 93, 94, 101, 146, 149, 164, **171-172**, 373, 380, 390, 397, 431
- viridans. Vezi *Streptococi orali*
- Streptococcus* 18, 19, 90-92, 131, **161-167**, 409
- *agalactiae* 89, **168-169**, 380
- *anginosus* 90, **171**
- *equisimilis* 167
- *mutans* 90, 94, **171**
- *pyogenes* 87, 89, 94, 107, 111, 113, 157, **162-167**, 364, 383, 384, 387-390, 430, 436
- *pneumoniae* 89, 90, 130, 131, 134, 136, 137, 139, 141, 143, 146, 162, **169-171**, 213, 300, 389, 416
- *zooepidemicus* 122, **167-168**, 426
- Streptodornază 164
- Streptogramine 137
- Streptokinază 163
- Streptolizină
 - O **164**, 165, 241, 370, 390
 - S **164**, 390
- Streptomycină 70, **135-136**, 193, 256, 431
- Streptomyces* 134-137, 139
- Sulbactam 133, 195
- Sulfametoxazol 139-140, 145, 201, 215, 283
- Sulfamidă 139, 165, 200, 201, 248, 278, 431
- Sulfone 139
- Superoxid, radical 45, 204, 208, 246
- Superoxid dismutază 44, 87, 188, 204, 246
- Sursă de infecție, neutralizare 113-114

- Ș**
- Șancru 214, 254, 262
- Șoc
 - anafilactic 118, 132
 - endotoxinic 97, 178, 183, 435
 - rece, efect antimicrobian 125
 - toxic streptococic 165

- T**
- T, celule. Vezi *Limfocit T*
- Tamm-Horsfall, proteină 186
- Tampon de vată 359, 360
- Taxonomie
 - bacteriană 15, 18, 19
 - virală 62-65
- Tazobactam 133, 195
- Tegument, microbiotă 87-89
- Teichoici, acizi 26
- Teicoplanină 134
- Temperatură de creștere 46
- Teoria
 - generației spontane 2
 - germinilor 3
- Test
 - keratoconjunctivitei la cobai 185
- Teratogen 306, 307, 414
- Termofil, organism 46
- Termosensibilă, mutantă virală 78, 79
- Tetanolizină 241
- Tetanos 98, 108, 110, 113, 118, 238, **241**
 - imunoglobuline anti- 241
 - imunizare anti- 241
 - neonatorum 106,
- Tetanospasmină **241**
- Tetraciline 136, 140, 141, 149, 176, 177, 180, 193, 196, 199-201, 203, 221, 223, 230, 237, 250, 251, 259, 264, 265, 274, 275, 283, 284, 288, 289
- Ticarcilină 133, 149, 208, 211, 249
- Tifos
 - de lăstăriș 279, **281**
 - exantematic 18, 108, 109, 113, 278, **279-282**
 - murin **281**, 282
 - pulmonar. Vezi *Febră Q*
- Timp de generație 48
- Tobramicină **135-136**, 208, 223
- Togaviridae* 57, 64, 306, 329
- Toleranță, antibiotice 131
- Toxicitate selectivă 129
- Toxiinfecție alimentară
 - definiție 423
 - diagnostic etiologic 423-428
- Toxină 46, 73, 95, 97, 98, 103, 110, 170, 183, 238, 241, 244, 367-370, 410, 423, 424,
 - A-B 97
 - A 243
 - B 243
 - α 97, 155, 242
 - β 242
 - botulinică 97, 98, 110, 239, 240, 426
 - cărbunoasă **236**,
 - citolitică 163, 164,
 - dermonecrotică 217
 - difterică 98, **228-229**, 230, 367
 - endotoxină 29, 95, 97-99, 102, 110, 174, 175, 177, 183, 188, 202, 208, 212, 210, 218, 219, 225, 264, 266, 366, 382
 - exfoliativă 155, **156**
 - exotoxină 97-99, 110, 208, 225, 227, 228, 246, 279,
 - fungică 348, 352
 - holerică 100, 183, **198**, 199,
 - pertussis **217**, 218
 - *Shiga* 183, 187
 - sindromului șocului toxic (TSST) 155, **156**, 158
 - tetanică 97, 98, 109, 110, **241**
- Toxoid. Vezi *Anatoxină*
- Toxoplasma gondii* 394, 415
- Trahom 287
- Transducție 73, 76,
- Transfer genetic 69, **71-78**
- Transferină 96
- Transformare
 - genetică 73-74
 - malignă a celulelor 55, 62, 324, 325, 337, 347-352
- Translocare 87, 96, 108
- Transpozabil, element 73
- Transpozaze 73
- Transpoziție, definiție 73
- Transpozon 71, 73
- Transtraheală, aspirație 396
- Treponema* 18, 89, 91, 92, **261-265**
 - *carateum* 265
 - *pallidum* 40, 125, **261-264**, 394, 406, 407, 409, 412, 415
 - *phagedenis* 93
- Treponeme 31, 91, 93, 97, 107, 109, **261-265**, 362, 366, 370, 384
- Treponeme PROS 261
- Trichomonas vaginalis* 216, 406-410, 412
- Trimetoprim 140, 141, 145, 166, 167, 171, 201, 215, 283
- Trovafloracin 139, 249
- TSST-1. Vezi *Toxina sindromului șocului toxic*
- Tuberculină 119, 256, 257
- Tuberculolipide 253, 254
- Tuberculoproteine 253, 255
- Tuberculom 254
- Tuberculoză 107, 113, 114, 116, 119, 139, **253-258**, 365, 366, 385, 396, 399, 404, 410, 411, 436
 - diagnostic microbiologic 255-256
 - i.d.r. 119, 256
 - infecție primară 254
 - infecție secundară 255
 - vaccinare anti- 106, 110, 117, 118, 256, 257
- Tuberculozei, bacili 96, 109, 110, 135, 253-257, 364, 392, 436
- Tularemie 107, 113, **221-222**
- Tularină 222
- Tulpină microbiană 15
- Tuse convulsivă 99, 107, 118, 216, **217-218**, 388
- Tyndallizare 122

- U**
- Umflare a capsulei, test 169
- Unitate
 - formatoare de colonii 49
 - formatoare de plaje 55
- Unități de măsură 21
- UPEC. Vezi *Escherichia coli uropatogen*
- Ureaplasma urealyticum* 89, 93, 272, 274, 275, 416
- Urează 182, 183, 187, 188, 192, 196, 203, 204, 205, 219, 399
- Urează, test 205
- Uree, testul respirației 205
- Ureidopeniciline 133, 148, 149, 168, 172, 195, 201
- Uretrită, diagnostic etiologic 411-413
- Urină
 - examen citobacteriologic 401-403
 - prelevarea probelor 399-402
- Urinar, tractus

- infecții 159-161, 168, 172, 183, 186, 187, 195, 207, 210, 211, 230, 231, 247, 274, 316, 398, 435
- Urlian, virus 303, 306-308, 380, 382, 389

Urocultură cantitativă 403-404

V

V, factor de creștere 212-214

Vi, antigen 182, 188-191, 196

Vaccin

- anti
 - adenovirus 117, 317
 - antrax 237
 - botulinic 240
 - difteric 117, 218, 230, 241
 - gripal 117, 301
 - *Haemophilus influenzae* 214
 - hepatită cu virus A 334
 - hepatită cu virus B 117, 337-338
 - holeric 117, 199
 - meningococic 117, 119, 179
 - parotidită epidemică 304
 - pertussis 117, 218, 230, 241
 - pneumococic 117, 171
 - poliomieltic 117, 290, 294
 - *Pseudomonas* 117, 208
 - rabic 117, 312
 - rubeolic 307
 - rujeolic 99, 117, 304, 305
 - tetanic 117, 218, 230, 241
 - tifoidic 117, 191
 - tuberculos 117, 257
 - variolic 327-328
- atenuat 116
- clonat 117
- conjugat 179
- inactivat 117
- purificat 117
- sintetic 117

Vaccinare

- complicații 117
- contraindicații 118
- indicații 117

Vaccinia, virus 328

Vagin, microbiotă indigenă 88, 89, 92, 93

Vaginită 407, 409, 410

Vaginoză 215-216, 250, 407-410

Vancomicină 134, 137, 141, 146, 159, 172, 176, 205, 215, 231, 234, 237, 244, 248-250, 391, 431, 434, 435

Variație

- antigenică majoră 298-299
- antigenică minoră 298-299
- fenotipică 69
- genotipică 66, 69
- rezultatelor de laborator 356
- - analitică 356
- - biologică 356
- - postanalitică 356
- - preanalitică 356
- S→R 70, 73, 77, 97, 181, 218, 233

Varicela virus 62, 152, 318, 321-322, 380, 389, 395, 415

Varicelă 321-322

Variolă 113, 114, 327-328

Variolic, virus 327-328

VDRL, test 263, 264, 369

Vectori biologici 108, 266, 268, 276, 278-284, 330-332

Veillonella 89-92, 245, 249, 409

Vero, linie celulară 183, 306

Verotoxină 183, 185

Veruci 61, 108

Verruga peruana 276-277

Vi, antigen 182, 188-191, 196

Vibrio 47, 197-200, 384, 420

- *cholerae* 100, 197, 198-200, 384, 420-422, 425
- ElTor 198
- *parahaemolyticus* 47, 197, 200, 425, 428

Vibrioni

- holerigeni 10, 11, 107, 113, 198-200, 419
- NAG. Vezi *Vibrioni non holerigeni*,
- non-holerigeni 200, 419, 421, 422, 425, 428

Vidarabină 152, 320, 322

Vincent, angină 247-248, 391

Vindecare

- clinică 109
- microbiologică 109

Viremie 109, 291, 304, 306, 307, 313, 314, 315, 327, 331, 334, 338, 342, 343, 345

Virion 52

Viroid 7

Virulență 95

- factor 99
- mecanism 96
- plasmid de 69

Virus

- acid nucleic 52, 54
- capsidă 52-53
- clasificare 62
- cultivare 54-56
- definiție 52
- dimensiuni, formă 52, 53, 64, 65
- infecție virală
- - citocidă 61
- - latentă 62
- - lentă 62
- - persistentă 61
- - abortivă 62
- - integrată 61
- replicare 56-60

Voges-Proskauer, test 182, 195

Volutină 22

v-onc 350

VSH 149, 365-366, 399

W

Waterhouse-Friderichsen, sindrom 178, 270

Weil-Felix, test 280

Western Blot 263, 268,

Widal, reacție 182, 190, 368

X

X, factor de creștere 212-215

Xenotropic 349

Y

Yersinia 89, 99, 181, 192-194, 421

- *enterocolitica* 99, 192-195, 418, 419, 421, 425, 428

- *pestis* 136, 192, 193-194, 393

- *pseudotuberculosis* 192-194

Yops 192

Z

Zidovudină 152, 345

Ziehl-Neelsen, colorație 37-38,

Zoster. Vezi *Herpes zoster*